

UNTERSUCHUNGEN
ZUM VITAMIN D-BEDARF
BEI KRALLENAFFEN UND
BESTIMMUNG DER NORMALBEREICHE
VITAMIN D-ABHÄNGIGER
BLUTPARAMETER

Heike Schnell

*Diss
München
1985*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. H. Zucker

**UNTERSUCHUNGEN ZUM VITAMIN D-BEDARF BEI
KRALLENAFFEN UND BESTIMMUNG DER NORMALBEREICHE
VITAMIN D-ABHÄNGIGER BLUTPARAMETER**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Heike Schnell
aus
Tübingen

München, 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl
Referent: Prof. Dr. H. Zucker
Korreferent: Prof. Dr. D.O. Schmid

Tag der Promotion: 22. Februar 1985

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

In Dankbarkeit

Meinen Eltern

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 Vitamin D-Physiologie	3
2.2 Vitamin D-Mangel	11
2.3 Vitamin D-Hypervitaminose	15
2.4 Nahrung der Krallenaffen in Natur und Gefangenschaft mit besonderer Berücksichtigung der Vitamin D-Gehalte	17
2.5 Besonderheiten des Vitamin D-Stoffwechsels und ernährungsbedingte Knochenerkrankungen bei Neuweltaffen	20
2.6 Übersicht über Vitamin D-abhängige Blutparameter bei Krallenaffen	22
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	25
3.1 Versuchsbeschreibung und Versuchsmethodik	25
3.1.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen	25
3.1.2 Versuchplanung und Versuchsdurchführung	27
3.1.3 Versuchsparameter	30
3.1.4 Versuchsdiäten	34
3.1.5 Statistik	37

3.2	V Versuchsergebnisse	38
3.2.1	Vorversuch	38
3.2.2	Hauptversuch	40
3.2.2.1	Serumparameter der Versuchstiere: Calcium, anorganisches Phosphat, alkalische Phosphatase, 25(OH)D, Parathormon	40
3.2.2.2	Röntgenuntersuchung	57
3.2.2.3	Verzehr	57
3.2.2.4	Gewichtsentwicklung	60
3.2.2.5	Kotbeschaffenheit	63
3.2.2.6	Allgemeinbefinden, Krankheits- und Todesfälle	64
3.2.3	Nachversuch	66
4.	DISKUSSION	70
4.1	Vitamin D-Depletion	70
4.2	Vergleich der Serumparameter bei unterschiedlicher Vitamin D ₃ -Zufuhr	73
4.3	Abgrenzung der Normalbereiche Vitamin D-abhängiger Blutparameter	76
4.4	Besondere Beobachtungen an Versuchstieren	81
5.	ZUSAMMENFASSUNG	83
	SUMMARY	85
6.	LITERATURVERZEICHNIS	87
	ANHANG	104

1. EINLEITUNG UND PROBLEM- STELLUNG

Die Familie der Krallenaffen (Callithricidae) zählt zu der Primatenteilordnung der Neuweltaffen. Neuweltaffen, im Gegensatz zu den schmalnasigen Altweltaffen, werden auf Grund der breiten Nasenscheidewand auch Breitnasenaffen genannt. HERSHKOVITZ (1977) teilt die Callithricidae nach ihrer unterschiedlichen Dentition in die Unterfamilien der Marmosets und der Tamarine ein. Zu den Marmosets zählt u.a. die Spezies *Callithrix jacchus* (Weißbüscheläffchen), zu den Tamarinen gehören *Saguinus fuscicollis*, *Saguinus labiatus* und *Saguinus mystax*. Die Krallenaffen sind in den tropischen Regenwäldern Südamerikas beheimatet. Sie sind tagaktive Baumbewohner, die sich aus dem pflanzlichen wie tierischen Angebot ihrer Umgebung ernähren.

Eine schnelle Generationsfolge, hohe Reproduktionsfähigkeit in Gefangenschaft, und auch die geringe Körpergröße (bis zu 600 g Körpergewicht) sowie die relativ geringen Haltungskosten machen die Krallenaffen in der medizinischen Forschung zu begehrten Versuchstieren. Sie werden vor allem für virologische, pharmakologische, toxikologische und teratologische Forschungen eingesetzt. Auf Grund von Exportbeschränkungen der Herkunftsländer Brasilien, Bolivien und Peru können wissenschaftliche Institute nur eine begrenzte Anzahl von Versuchstieren erhalten. Daher gewinnen erfolgreiche Zuchtkolonien in zunehmendem Maße an Bedeutung für eine ausreichende Bereitstellung von Versuchstieren.

Sowohl für die Zucht- als auch Versuchstierhaltung ist u.a. eine bedarfsgerechte Ernährung Grundvoraussetzung. In größeren Kolonien kann dies auf längere Sicht nur über standardisiertes Alleinfutter

mit einem entsprechenden Gehalt an Rohnährstoffen, Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen erreicht werden.

Die Zucht- und Versuchstiere erhalten in der Regel keine direkte Sonnenbestrahlung. Die Vitamin D-Versorgung erfolgt daher ausschließlich über die Nahrung. Nachdem festgestellt wurde, daß bei Neuweltaffen Vitamin D₂ weniger wirksam als Vitamin D₃ ist (siehe 2.4), wird den Tieren Vitamin D₃ mit dem Futter angeboten. Über den tatsächlichen Vitamin D₃-Bedarf herrscht noch Unklarheit. Sicherlich ist er nicht so hoch wie oft angenommen (siehe 2.4). Eine Klärung des tatsächlichen Vitamin D-Bedarfs ist für gesunde Zucht- und angemessene Versuchstierhaltung notwendig, um Vitamin D-Mangelkrankungen, wie Rachitis und Osteomalazie einerseits und Vitamin D-Intoxikationen andererseits zu vermeiden.

In Fortsetzung der Untersuchungen von KASPAR (1983), die einen ersten Beitrag zur Ermittlung des Calcium-, Phosphor- und Vitamin D₃-Bedarfs bei *Callithrix jacchus* leisten, wurden weitere Versuche mit den Tieren der Spezies *Saguinus fuscicollis* durchgeführt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war:

- den tatsächlichen Vitamin D₃-Bedarf bei Krallenaffen annähernd zu klären, wobei vor allem die Reaktion der Vitamin D-abhängigen Blutparameter Calcium, Phosphor, alkalische Phosphatase, 25(OH)D und Parathormon auf unterschiedliche Vitamin D-Gehalte im Futter bei definierter Calcium- und Phosphorversorgung untersucht wird.
- die Auswirkung eines Vitamin D-Mangels bei längerer Vitamin D-freier Ernährung festzustellen.
- die Normalbereiche der Blutparameter, insbesondere für Parathormon, alkalische Phosphatase und für 25(OH)D zu ermitteln.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 Vitamin D-Physiologie

Das Vitamin D (Calciferol), läßt sich in chemischer Hinsicht von Steroidhormonen ableiten. Abbildung 1 zeigt die chemische Struktur des Cholecalciferol (Vitamin D₃) und des Ergocalciferol (Vitamin D₂). Bei dem Vitamin D ist der B-Ring des SteranGrundgerüstes durch eine 5,7 dien-Brücke ersetzt. Die 10,19 Doppelbindung und die 5,7 dien-Brücke sind Voraussetzung für die spezifische Bindung an Rezeptoren (DeLUCA, 1979).

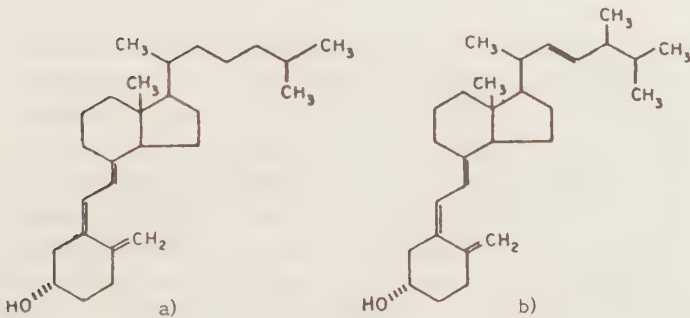


Abb. 1: a) Cholecalciferol (Vitamin D₃)
b) Ergocalciferol (Vitamin D₂)

Der Organismus hat die Fähigkeit, Vitamin D_3 zu synthetisieren. Aus Cholesterin wird in der Leber 7-Dehydrocholesterin (Provitamin D_3) gebildet. 7-Dehydrocholesterin wird in der Haut nur unter Einwirkung von UV-Strahlen in Präcalciferol umgewandelt, welches schließlich zu Cholecalciferol (Vitamin D_3) isomerisiert wird. Der Vitamin D-Bedarf wird hauptsächlich aus Eigensynthese gedeckt. Über die Nahrung werden Provitamine oder Vitamin D_2 (Ergocalciferol), das sogenannte pflanzliche Vitamin D, und das in tierischen Produkten vorkommende Vitamin D_3 zugeführt. Die orale Aufnahme spielt jedoch unter normalen Bedingungen eine geringe Rolle (FRASER, 1983; POSKITT et al., 1979).

Bei Küken (STEENBOCK und KLETZIEN, 1932) und Neuweltaffen (STARE et al., 1963) ist Vitamin D_2 weniger wirksam als Vitamin D_3 .

Das mit der Nahrung aufgenommene, fettlösliche Vitamin D gelangt mit Hilfe der Gallenflüssigkeit unverestert mit der Chylomikronenfraction transzellulär durch die Darmwand des unteren Duodenums und Jejunums (DUELAND et al., 1982). Das Vitamin D gelangt mit der Lymphflüssigkeit an Chylomikronen gebunden ins Blut. In dieser Form unterliegt es dem Abbaumechanismus in der Leber schneller als das an Vitamin D-spezifisches Transportprotein gebundene (SILVER, BERRY, 1982). FRASER (1983) sieht darin eine Abmilderung schädigender oraler Vitaminstöße. Dagegen wird das in der Haut synthetisierte Vitamin D nur langsam ins Blut abgegeben und bleibt so länger vor dem Inaktivierungsmechanismus in der Leber geschützt.

Zwei Umwandlungsschritte sind notwendig, um Vitamin D in die wirksame Form, das $1,25(OH)_2D$ zu überführen. In der Leber wird Calciferol, in physiologischer Dosis vor allem in der microsomalen

Fraktion und in pharmakologischer Dosis in den Mitochondrien, durch zwei verschiedene Enzyme an Position 25 hydroxyliert. Die 25-Hydroxylasen in Darm und Niere spielen dagegen eine unbedeutende Rolle (DeLUCA, 1979). Eine weitere Umwandlung findet in den Mitochondrien der proximalen Tubuluszellen der Niere statt (DeLUCA, 1979; BRUNETTE et al., 1978). Dabei wird 25(OH)-Cholecalciferol am C₁-Atom in α -Position zu 1,25(OH)₂D₃ hydroxyliert. Diese Verbindung entspricht der klassischen Hormondefinition. Sie kann als ein Steroidhormon und die Niere somit als endokrines Organ bezeichnet werden (FRASER, 1980).

Unter hypercalcämischen Bedingungen wird 25(OH)D₃ durch eine 24-Hydroxylase in der Niere vermehrt in 24,25(OH)₂D₃ umgewandelt. 24,25-Dihydroxyvitamin D₃ besitzt, in höheren Dosen verabreicht, eine biologische Aktivität. Trotzdem ist umstritten, ob 24,25(OH)₂D₃ eine eigenständige biologische Funktion besitzt. Während NORMAN et al. (1982) zeigen konnten, daß 24,25(OH)₂D₃ zusammen mit 1,25(OH)₂D₃ für das Schlüpfen von Vogelküklen notwendig ist, findet DeLUCA keine Hinweise darauf, daß 24,25(OH)₂D₃ in vivo eine Rolle spielt. Als Beweis führt er an, daß 24,24 F₂-25(OH)D₃, eine Verbindung, die in 24-Stellung nicht hydroxyliert werden kann, in allen untersuchten Vitamin D-abhängigen Systemen aktiv ist (BROMMAGE et al., 1983).

Das in der Niere gebildete 1,25(OH)₂D₃ wird über ein Transportprotein im Blut zu den Zielorganen befördert. Bei diesem Transportprotein handelt es sich um das "Vitamin D-binding protein", das nicht nur Vitamin D, sondern auch seine Metabolite bindet und transportiert. Dieses Protein ist übrigens schon lange in einem ganz anderen Zusammenhang bekannt. Es handelt sich dabei um das von Genetikern für Vaterschaftsnachweise herangezogene "group specific component".

In den Zellen der Erfolgsorgane wird $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an spezifische Zytosolrezeptoren gebunden und in den Zellkern eingeschleust. Nach Aktivierung einer RNS-Polymerase wird neue RNS produziert und in funktionelle Proteine übersetzt. Nur 100-fache Konzentrationen von analogen Stoffen, wie $25(\text{OH})\text{D}_3$ und $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ können $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ kompetetiv verdrängen (HAUSSLER, 1974). Bis jetzt wurden spezifische Zytosolrezeptoren in Darmzellen, Nieren, Haut, Pankreas, Monozyten und aktivierten T-Lymphozyten nachgewiesen (CLEMENS et al., 1982; FELDMAN et al., 1980; KORKOR et al., 1983; BHALLA et al., 1983; CHRISTAKOS und NORMAN, 1981).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wird unter Abspaltung von CO_2 durch Oxidation an einer Seitenkette bis zu 35 % zur kaum wirksamen Calcitroinsäure umgewandelt und über die Galle ausgeschieden. Untersuchungen über die Natur der über Galle ausgeschiedenen Produkte ergaben, daß sich darunter zusätzlich $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in geringen Mengen, Glucuronate, Mono- und Disulfate von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $1,25,26(\text{OH})_3\text{D}_3$ befanden (KUMAR, 1984). Die Bedeutung von 24-oxo- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $25(\text{OH})\text{D}_3$ -26,23 Lacton, welche in Plasma und Intestinum vorkommen, ist noch unklar (NAPOLI et al., 1983).

Eine enterohepatische Rezirkulation von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und seinen Metaboliten wurde nachgewiesen (KUMAR, 1984). Über die Bedeutung eines enterohepatischen Kreislaufs für den Vitamin D-Haushalt herrschen unterschiedliche Auffassungen. Nach COMPSTON und CREAMER (1977) führt die eingeschränkte Resorption der über Galle ausgeschiedenen Metabolite bei Dünndarmerkrankungen trotz UV-Exposition zu Vitamin D-Mangel. Untersuchungen von BATCHELOR und COMPSTON (1983) ergaben, daß der $25(\text{OH})\text{D}$ -Gehalt im Serum bei rohfaserreicher Ernährung schneller abnahm. Sie folgerten daraus, daß möglicherweise Vitamin D an Rohfaser gebunden wird und somit der Resorption nicht mehr zur Verfügung steht. Dagegen

hält FRASER (1983) eine diätbedingt höhere Inaktivierung von Vitamin D in der Leber für möglich. Er bezweifelte die Bedeutung eines enterohepatischen Kreislaufs für den Vitamin D-Haushalt, da nur wenig unverändertes $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ über die Galle ausgeschieden wird, die Vitamin D-Metaboliten nur eine geringe Wirksamkeit haben und die Exkretionskapazität der Leber hoch ist (CLEMENTS et al., 1984; FRASER, 1983).

Vitamin D hält den Calcium- und Phosphatplasmaspiegel aufrecht. Es fördert die Calcium- und Phosphatresorption im Darm, führt zu einer verbesserten Mineralisierung des verkalkten Osteoids sowie zu einer Steigerung der Calciummobilisierung und fördert die Calcium- und Phosphatreabsorption in der Niere.

WASSERMAN und TAYLOR (1963) fanden einen Vitamin D-abhängigen Faktor im Kükendarm, das "calcium binding protein" (CaBP). Dieses Protein wurde unter anderem bei Ratte, Meerschweinchen, Altwelt- und Neuweltaffe, Rind, Schwein, Pferd und Mensch nachgewiesen (WASSERMAN und TAYLOR, 1974; WASSERMAN und TAYLOR, 1971). Das CaBP wurde in folgenden Organen gefunden: Henlesche Schleife, distales Konvolut und Sammelrohr der Niere von Küken, Uterus von Legehennen, Nebenschilddrüse des Hundes, insulinproduzierende B-Zellen des Pankreas von Küken und Gehirn von Ratten (CHRISTAKOS et al., 1981; ROTH et al., 1982; KADOWAKI und NORMAN, 1984; OLDHAM et al., 1973; NORMAN et al., 1981; CHRISTAKOS und NORMAN, 1981; FELDMAN und CHRISTAKOS, 1983).

Zeitliche Übereinstimmung von Calciumresorptionssteigerung und CaBP-Zunahme bei Vitamin D-Gabe sowie Blockade dieser Vitaminwirkung durch Transkriptionshemmer Actinomycin D und α -Amanitin lassen auf eine Synthese des CaBP über die $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ indu-

zierte RNS-Synthese schließen (HAUSSLER, 1974). WASSERMAN und FULLMER (1983) halten es für möglich, daß Vitamin D sowohl beim Calciumtransfer in die Darmzelle, bei der Calciumtranslokation durch die Zelle als auch bei der Ausschüttung von Calcium aus der Zelle beteiligt ist. Es ist noch unklar, inwieweit die alkalische Phosphatase und die Ca-abhängige ATPase im Bürstensaum und das CaBP im Cytoplasma der Darmzelle zusammenwirken (LAWSON et al., 1977). Neben der Vitamin D-abhängigen aktiven Calciumresorption im proximalen Dünndarm besteht eine konzentrationsabhängige passive para- und transzelluläre Calciumresorption im gesamten Dünndarm (WASSERMAN und FULLMER; 1983; PANSU et al., 1983).

Das Phosphat wird im Dünndarm energieabhängig und calciumunabhängig resorbiert (KOWARSKI und SCHACHTER, 1969). CHEN und Mitarbeiter (1974) wiesen eine gesteigerte Phosphatresorption im Dünndarm bei $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Gaben nach. Durch Inhibitoren der Proteinsynthese wird diese Vitamin D-Wirkung aufgehoben.

SUTTON et al. (1977) stellten eine verstärkte Calciumreabsorption in der Niere durch Verabreichung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $25(\text{OH})\text{D}_3$ fest. WASSERMAN (1974) nahm eine Beteiligung des Vitamin D-abhängigen CaBP an der Calciumrückresorption in der Kükenniere an. Dagegen fanden HARRISON et al. (1977), daß die Vitamin D-Aktivität keinen Einfluß auf das CaBP der Rattenniere ausübt.

CHERTOW et al. (1983) und ROTH et al. (1982) vermuten einen Einfluß von Vitamin D auf die insulinproduzierenden B-Zellen des Pankreas, da CaBP im Pankreas nachgewiesen wurde und die Insulinfreisetzung bei Vitamin D-Mangel beeinträchtigt war.

In den proximalen Tubuluszellen der Niere wird Phosphat nach Vitamin D-Gaben stärker reabsorbiert (STEELE et al., 1975).

Der Wirkungsmechanismus im Knochen ist umstritten. Da an Osteoklasten keine Vitamin D-Rezeptoren gefunden wurden, jedoch an Monozyten, wird für die Mobilisierung von Calcium aus dem Knochen ein indirekter Mechanismus angenommen. Die Monozyten, als Vorläufer von Osteoklasten, sind in der Lage, Knochen zu resorbieren. Monozytenprostaglandine fördern die Produktion eines osteoklastenaktivierenden Faktors (OAF) und stimulieren somit die Knochenresorption über Osteoklasten (YONEDA und MUNDY, 1979).

Es herrschen noch unterschiedliche Auffassungen, welcher Metabolit von Vitamin D für die Knochenmineralisierung verantwortlich ist. BORDIER et al. (1977) folgerten aus Untersuchungen an Menschen, daß ein anderer Vitamin D-Metabolit als $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ für die Mineralisierung notwendig ist. Die Autoren MALLUCHE et al. (1981), ORNOY et al. (1978) und BORDIER et al. (1978) sahen in $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ einen für die Knochenformung wichtigen Metaboliten. Möglicherweise sind beide Metabolite für die Mineralisierung des Skeletts notwendig (DEKEL et al., 1983).

Parathormon spielt für die Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf die Knochenumformung und Mineralisierung eine wichtige Rolle (MALLUCHE et al., 1983) und braucht umgekehrt die Anwesenheit von Vitamin D zur Knochenwirkung (MAR SCHNER et al., 1981).

Eine zentrale Rolle in der Regulation des Vitamin D-Stoffwechsels spielt die Aktivierung der 1α -Hydroxylase in der Niere, die $25(\text{OH})\text{D}_3$ in $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ umwandelt (DeLUCA, 1974).

Die 1α -Hydroxylaseaktivität, und damit vermehrte Bildung der aktiven Form von Vitamin D, wird von Prolaktin, Oestrogen, Testosteron (MacINTYRE, 1977) und vom Wachstumshormon (SPANOS et al.,

1978) positiv beeinflusst, während $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Aktivität über eine Zellkernreaktion hemmt (FRASER, 1980).

Zwischen Parathormonsynthese und -sekretion und der 1α -Hydroxylierung besteht ein Rückkopplungsmechanismus. Parathormon wird bei Hypocalcämie vermehrt ausgeschüttet. Bei Vitamin D-Mangel oder bei Mangel an $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, z.B. bei Niereninsuffizienz, kann eine verstärkte Parathormonsekretion trotz Normocalcämie vorliegen. Dies spricht für eine direkt stimulierende Wirkung auf die Parathormonausschüttung (OLDHAM et al., 1973; FISCHER et al., 1973). Verstärkte Ausschüttung von Parathormon fördert die Umwandlung zum aktiven Vitamin D-Metaboliten (AARSKOOG und AKSNES, 1980) und hemmt die Aktivität der 24-Hydroxylase. Ferner konnte gezeigt werden, daß $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, vermutlich über Rezeptoren der Nebenschilddrüse, die Parathormonsekretion hemmt (CHERTOW et al., 1975; CANTERBURY et al., 1979).

Die Calcium- und Parathormonspiegel verhalten sich umgekehrt proportional. Dies bedeutet eine erhöhte Ausschüttung des Hormons bei Abnahme der Calcium-Ionen im Serum (SHERWOOD et al., 1968; BLUM et al., 1974). Die kurze Halbwertszeit des Parathormons im Plasma und die Geschwindigkeit, mit welcher sich der Calciumgehalt im Serum ändert, sprechen für eine direkte Calciumregulierung durch Parathormon im Blut. Bei niedrigem Calciumgehalt in der Nahrung und daraus resultierendem niedrigen Calciumspiegel im Blut wird eine Sekretion von Parathormon stimuliert. Parathormon bewirkt über die Aktivierung der 1α -Hydroxylase der Niere eine Erhöhung des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gehalts im Plasma (HEIDBREDER, 1978). Bei Hypercalcämie wird verstärkt der Metabolit $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gebildet, der einen hemmenden Effekt auf die Parathormonsekretion ausübt (CARE et al., 1977; CANTERBURY et al., 1979).

Bei phosphatarmer Ernährung und der damit verbundenen Hypophosphatämie steigt, auch bei parathyroidectomierten Tieren, der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gehalt an. Dies spricht für eine direkte Stimulation der 1α -Hydroxylase durch Hypophosphatämie (FRASER, 1980).

2.2 Vitamin D-Mangel

Das Krankheitsbild der Rachitis, einer generalisierten Mineralisierungsstörung des Knochens beim wachsenden Organismus, ist durch das Ausbleiben der Mineralisierung des neugebildeten Knochens und durch mangelhafte Verkalkung der Knorpelgrundsubstanz in der Epiphysenfuge gekennzeichnet.

Röntgenologisch sind folgende Merkmale faßbar: geringe Schattendichte des Knochens, schmaler Schatten der Knochenkompakta, unscharfe Zeichnung der Spongiosa, Verbreiterung der Epiphysenfuge und Proliferationszone, becherförmige Verbreiterung der Metaphyse, Verbreiterung und Auftreibung der Knorpelknochengrenze an den Rippen (sogenannter rachitischer Rosenkranz) und Deformationen vor allem der Röhrenknochen (POBISCH, 1978).

Im histologischen Bild ist unregelmäßiges Wachstum des Säulenknorpels an der verbreiterten Epiphysenfuge und in der Proliferationszone zu sehen (DÄMMRICH, 1967 b; JANDE und DICKSON, 1980).

An Rachitis erkrankte Tiere weisen ein reduziertes Wachstum und mangelhafte Gewichtszunahme auf, zeigen Bewegungsunlust, Auf-

treibungen in Gelenknähe und an den Rippen und Deformationen, vor allem an den Extremitäten.

Die Osteomalazie, die unter gleichen Umständen beim erwachsenen Organismus auftritt, ist durch einen mangelhaften Einbau von Mineralstoffen in das normal oder überschießend gebildete Osteoid gekennzeichnet.

Röntgenologisch ist diese Erkrankung charakterisiert durch erhöhte Strahlentransparenz des gesamten Skelettes, durch verschmälerte Kompakta und ein verwaschenes, aufgehelltes Spongiosanetz. Looser'sche Umbauzonen, d.h. quer zur Längsachse der Knochen verlaufende, bandförmige Aufhellungen vor allem an Rippen und Darmbein, sowie Schmorl'sche Knötchen an den Endplatten der Wirbelkörper sind für die Osteomalazie pathognostisch (BRASS et al., 1975; FREYSCHMIDT, 1980).

Histologisch ist für die Osteomalazie die Ausbildung osteoider Säume an den Spongiosabälkchen und Generallamellen sowie in den Havers'schen Kanälen charakteristisch (DÄMMRICH, 1970).

Bei der serologischen Untersuchung findet man bei Osteomalazie und Rachitis eine erhöhte Aktivität der alkalischen Phosphatase, einen erhöhten Parathormonspiegel und einen verminderten 25(OH)D-Spiegel, während der Calcium- und Phosphatspiegel normal oder erniedrigt sein kann (KRUSE et al., 1984; GROTH, 1962; JANDE, 1980).

Die Vitamin D-Unterversorgung kann folgende Ursachen haben: ungenügender Vitamin D-Gehalt in der Nahrung, nicht ausreichende UV-Strahlenexposition, verminderte Resorption infolge von Magen-Darmerkrankungen, genetische oder erworbene Stoffwechselerkrankungen und absoluter oder relativer Calcium- und Phosphatmangel.

Eine Abgrenzung von Rachitis bzw. Osteomalazie gegen Osteoporose und Osteodystrophia fibrosa generalisata ist durch klinische, radiologische, serologische und eventuell histologische Untersuchungen möglich.

Bei der Osteoporose handelt es sich um eine lokale oder generalisierte Stoffwechselerkrankung, die mit einer Verminderung der Knochenmasse bei erhaltener Knochenstruktur einhergeht.

Mangel an Eiweiß, Vitamin C und Östrogenen, sowie lang andauernde Kortikosteroidtherapien sind ursächlich an der generalisierten Osteoporose beteiligt, die sich aber z.B. durch Inaktivität der Extremitäten auch nur lokal manifestieren kann. KROKOWSKI und FRICKE (1978) erklären die Entstehung der Erkrankung in einer Störung der Blutzirkulation im Knochen und Knochenmark.

Da eine röntgenologisch erfaßbare Dichteabnahme des Knochens durch eine Abnahme der Spongiosadichte und auch durch eine alleinige Abnahme der Kalkdichte entstehen kann, ist eine Differenzierung zwischen Osteoporose, Osteomalazie und zum Teil auch Osteodystrophia fibrosa nicht möglich. Aus diesem Grund müssen serologische Parameter zur Abgrenzung dieser Erkrankungen herangezogen werden (FREYSCHMIDT, 1980). In der Regel sind bei der Osteoporose die Calcium-, Phosphat-, alkalische Phosphatase-, Parathormon- und 25(OH)D-Spiegel nicht verändert. Im Zweifelsfalle sichert eine histologische Untersuchung des Knochens die Diagnose. Kennzeichnend für Osteoporose ist eine Abnahme der Spongiosabälkchen und Erweiterung der Havers'schen Kanäle (DÄMMRICH, 1970).

Die Osteodystrophia fibrosa generalisata ist eine bei wachsenden und erwachsenen Tieren vorkommende, generalisierte Knochenerkran-

kung, die mit hochgradig osteoklastischem Abbau des mineralisierten Knochengewebes einhergeht. Dabei kommt es an Stelle des abgebauten Knochengewebes, unter Einfluß mechanischer Belastung, zu Ersatzwucherungen von Fasergewebe (DÄMMRICH, 1967 b).

Im Mittelpunkt des Krankheitsbildes steht ein Hyperparathyreoidismus, der meist sekundärer Natur ist, hervorgerufen durch exogene und endogene Störungen des Mineralstoffwechsels. Reiner Mangel an Calcium und/oder Phosphat und relativer Calciummangel, durch Phosphatüberschuß in der Nahrung wie auch durch eingeschränkte Phosphorausscheidung über die Niere, führen zur verstärkten Parathormonsekretion.

Röntgenologisch ist die Osteodystrophia fibrosa generalisata von der Osteomalazie und auch Osteoporose kaum zu unterscheiden. Es liegen fibroosteoklastische Veränderungen vor. Im Gegensatz zur Rachitis ist die Form der Metaphyse und vor allem die Breite und Begrenzung der Epiphysenfugen nicht verändert (POBISCH, 1978).

Bei der histologischen Untersuchung fallen, neben vielen kernreichen Osteoklasten in allen Knochenabschnitten, osteoide Säume an den Spongiosabälkchen und in den Havers'schen Räumen und in spindelige Elemente umgewandelte Osteoblasten, d.h. Fasergewebe, auf (DÄMMRICH, 1967 b).

Serologisch liegen erhöhte Parathormon- und Calciumspiegel vor. Die Phosphatgehalte sind normal oder erniedrigt und die Werte der alkalischen Phosphatase sind normal oder erhöht.

Die Manifestation eines sekundären Hyperparathyreoidismus bei Darmerkrankungen, bedingt durch eine Malabsorbtion von Calcium

und Vitamin D₃, kann mit einer rachitischen bzw. malazischen Komponente einhergehen, so daß die Symptome beider Krankheitsbilder ineinander übergehen (HEIDBREder, 1978; MARSCHNER et al., 1981).

2.3 Vitamin D-Hypervitaminose

Eine Vitamin D-Intoxikation kann entweder durch ein Überangebot dieses Vitamins in der Nahrung oder durch zu hohe Prophylaxegaben verursacht werden.

Die enzootische Kalzinose der Rinder im bayrischen und österreichischen Alpenvorland und außereuropäische Kalzinosen wie "Enteque seco" in Südamerika, "Naalehu disease" auf Hawaii, "Manchester wasting disease" auf Jamaika und "Cestrum diurnum Vergiftung" in Florida ähneln sich und entsprechen in etwa dem Krankheitsbild einer D-Hypervitaminose. Als Ursache der Kalzinosen wurde die Aufnahme giftiger Pflanzen angesehen, z.B. *Solanum malacoxylon*, *Solanum verbasciformis*, *Cestrum diurnum* und *Trisetum flavescens*, die biologisch hochaktive Vitamin D-ähnliche Substanzen enthalten (WORKER und CARRILLO, 1967; WASSERMAN et al., 1976; ZUCKER et al., 1977; DIRKSEN et al., 1981; RAMBECK und ZUCKER, 1982).

Das klinische Bild der D-Hypervitaminose ist von der Überflutung des Organismus mit Calcium geprägt. Die Symptome äußern sich

in raschem körperlichem Verfall, profusen Durchfällen, Erbrechen, Atembeschwerden und einem Anstieg des Blutspiegels von Phosphat und Calcium, der mit vermehrter Ausscheidung beider Mineralien, besonders Calcium im Urin, verbunden ist. Beim wachsenden Individuum tritt eine Wachstumshemmung auf und der Mechanismus der enchondralen und periostalen Knochengewebsbildung wird gestört.

Röntgenologisch sind eine starke Schattendichte der Diaphysenenden, periostale Kalzifikation, Ossifikation und abnorme Knorpelverkalkungen sowie pathologische Kalkablagerungen in verschiedenen Organen festzustellen. Beim jugendlichen Individuum fallen dichte Verkalkungszonen, periostale Kalkablagerungen und periostale Appositionen sowie Osteoporose an den Skelettabschnitten, die der modellierenden Resorption unterliegen, auf.

Pathologisch-anatomisch sind Kalkablagerungen in "calcinophilen", meist elastinreichen Geweben festzustellen. Metastatische Verkalkungen findet man, nach abnehmender Empfänglichkeit aufgezählt, in Niere, Aorta, Herz, Magen, Lunge, peripheren Arterien, peripherer Muskulatur, innersekretorischen Drüsen und in peripheren Venen.

2.4 Nahrung der Krallenaffen in Natur und Gefangenschaft mit besonderer Berücksichtigung der Vitamin D-Gehalte

Krallenaffen sind omnivore Tiere. Freilandbeobachtungen ergaben, daß der tierische Anteil der Nahrung aus Insekten bestand, wie Spinnen, Heuschrecken und Grashüpfern, jedoch Eier, frisch ausgeschlüpfte Vögel, kleine Eidechsen, Baumfrösche und junge Baumnager ebenfalls verzehrt wurden. Der pflanzliche Anteil der Kost setzt sich aus Früchten, Blättern, Blüten, Nüssen und Baumsaft zusammen (NAPIER und NAPIER, 1967; WENDT, 1968; KINGSTON, 1969; THORINGTON, 1970; GARBER, 1980; KAUMANN, 1982; GARBER, 1984). Untersuchungen des Freßverhaltens einer Gruppe von *Saguinus oedipus geoffroyi* in Panama ergaben eine saisonal verstärkte Aufnahme von Säften bestimmter Bäume (z.B. *Anacardium excelsum*). Das Baumexsudat besteht hauptsächlich aus Wasser (40 - 55 %), Kohlenhydraten, Protein (2 - 10 %) und Mineralstoffen (GARBER, 1984). Das Calcium-Phosphorverhältnis beträgt bis zu 142 : 1. GARBER (1984) folgert daraus, daß trotz hohen Pflanzen- und Insektenangebots in dem Zeitraum Mai bis Juli die in dieser Zeit vermehrte Baumsaftaufnahme eine Mineralstoffimbalance ausgleicht. Diese Imbalance kann z.B. durch relativ hohen Verzehr von Früchten, die mehr Phosphor als Calcium enthalten, verursacht worden sein. Der Ausgleich ist vor allem in der terminalen Gestations- und Laktationsphase der Tiere bedeutsam, die in diesem Zeitraum liegt.

In zoologischen Gärten und von Verhaltensforschern werden den Tieren naturbelassene Nahrungsmittel separat und ad libitum angeboten, da schmackhaftes und abwechslungsreiches Futter für die Lebhaftigkeit der Krallenaffen von Bedeutung ist (EPPL, 1967). Diese Fütterung ist unter Laborbedingungen ungeeignet. In den meisten Zuchtkolonien und Versuchstierhaltungen werden Fertigfuttermittel als Basisfutter eingesetzt. Das aus natürlichen oder geringfügig veredel-

ten Bestandteilen zusammengemischte und zu Pellets oder Biscuits verarbeitete Futter wird zum großen Teil kommerziell hergestellt¹⁾. Ergänzend zu dieser Diät werden den Tieren frisches Obst, aber auch Babybrei, gekochte Eier, Milch, Mehlwürmer und sogar Hunde- und Katzendosenfutter angeboten (HOBBS et al., 1977).

Der Bedarf an Vitamin D ist von der Calciumversorgung, vom Calcium-Phosphorverhältnis, vom Alter, von der Wachstumsgeschwindigkeit und der körperlichen Leistung, wie z.B. Gravidität und Laktation, abhängig. In der Regel ist der Bedarf beim Tier mit 200 bis 1.000 IE/kg Futtertrockensubstanz gedeckt, wenn für keine ausreichende UV-Bestrahlung gesorgt ist. Ein Calcium-Phosphorverhältnis von 1-2 : 1 wird angestrebt (KING, 1975). Über den Bedarf an Vitamin D₃ für laborgehaltene Neuweltaffen herrscht Unklarheit. In Tabelle 1 ist zur besseren Übersicht die Vitamin D₃-Konzentration in verschiedenen Diäten angegeben.

Die Angaben über Vitamin D-Gehalte im Futter reichen von 1.250 bis zu 11.500 IE Vitamin D₃/kg. Bei den Empfehlungen zur Vitamin D₃-Versorgung treten noch krassere Unterschiede auf: sie reichen von 32 bis 600 IE Vitamin D₃ pro Tier und Tag. Eine Vitamin D₃-Gabe von 500 IE pro Woche entspricht einem durchschnittlichen Angebot von ca. 70 IE Vitamin D₃ pro Tier und Tag. Nachteilige Effekte wurden bei keiner dieser Dosierungen beschrieben.

1) z.B. Beta Diet, Stepfield, Witham/Essex, Great Britain; Monkey diet Milling Industries, Adelaide, Australia; Science diet "Marmosets" Riviana Food Inc., Tobeka, Kansas, USA.

Tabelle 1: Vitamin D₃-Konzentration in Diäten von Neuweltaffen

Spezies	IE Vitamin D ₃			Quelle
	/kg Diät	/Tier /Tag	/Tier /Woche	
Neuweltaffe	10.000			Beta Diets, Stepfield ¹⁾
Neuweltaffe	2.200			CLARKE et al., 1977
Nichtmenschl. Primat	1.250 ²⁾			NEWBERN und HAYES, 1979
Krallenaffen			500	MARTIN, 1978
Nichtmenschl. Primat	2.000			KERR, 1972
Krallenaffen	2.200	35		KING, 1978
Krallenaffen	2.640	32		FLURER et al., 1983
Krallenaffen		300		SHINKI et al., 1983
Krallenaffen		600		DREIZEN, 1973
Krallenaffen und Kapuzinerartige			500	GARCIA, 1976
Saguinus oedipus		500		HAMPTON et al., 1966
Saguinus oedipus			500	HUNT et al., 1967
Saguinus nigricollis				
Saguinus fuscicollis				
Callithrix jacchus	11.500			HIDDELSTONE, 1975
Callithrix jacchus	5.000			WIRTH et al., 1979 ¹⁾
Callithrix jacchus	10.000			WIRTH und BUSELMAIER, 1982 ¹⁾
Cebus albifrons	2.000			HUNT et al., 1967
Cebus albifrons, Saimiri sciureus	8.000			BAKER und HERBERT, 1972
Totenkopf- und Kapuzineraffe	1.250			AUSMAN und HAYES, 1974
Kapuzineraffe	1.250			LEHNER et al., 1967

1) = kommerzielle Diäten

2) = umgerechnet: 1,25 mg Vitamin D/kg Vitaminmischung (200.000 IE)

2.5 Besonderheiten des Vitamin D-Stoffwechsels und ernährungsbedingte Knochenerkrankungen bei Neuweltaffen

Nachdem STARE et al. (1963) erstmals von einer demineralisierenden Knochenerkrankung bei Neuweltaffen der Gattung *Lagothrix* berichtet hatten, die nach Ersatz von Vitamin D_2 durch Vitamin D_3 verschwand, stand der Vitamin D-Stoffwechsel im Mittelpunkt mehrerer Forschungsarbeiten. Berichte über *Saimiri sciureus*, *Cebus albifrons*, *Saguinus oedipus*, *S. nigricollis* und *S. mystax* bestätigten die unterschiedliche Aktivität von Vitamin D_2 und Vitamin D_3 bei Neuweltaffen (BULLOCK und BOWEN, 1966; LEHNER et al., 1967; HUNT et al., 1967; HUNT et al., 1966; HUNT und GARCIA, 1967). Die geringe Wirksamkeit von Vitamin D_2 bei Geflügel war schon bekannt. Dies wurde in späteren Untersuchungen mit einer schwächeren Bindung von Vitamin D_2 an die Transportproteine im Blut und einer schnelleren Ausscheidung von Vitamin D_2 über die Galle und Faeces erklärt (BELSEY et al., 1974; IMRIE et al., 1967). Bei Neuweltaffen dagegen werden beide Vitaminformen ähnlich stark an Transportproteine gebunden. Als Ursache der Besonderheit des Vitamin D-Stoffwechsels wird entweder eine unterschiedliche intrazelluläre Vitamin D-Bindung in Leber und Niere oder eine herabgesetzte Empfindlichkeit für $1, 25(OH)_2D_2$ im Gegensatz zu $1, 25(OH)_2D_3$ in den Zielgeweben vermutet (HAY und WATSON, 1975; SHINKI et al., 1983).

CORSON WHITE stellte schon 1922 fest, daß Osteomalazie bei Kapuzineraffen häufiger auftritt als bei Rhesusaffen, und daß daher auf eine ausreichende Vitamin- und Mineralstoffversorgung bevorzugt geachtet werden muß. Mehrere Autoren bestätigten die Anfälligkeit der Neuweltaffen für metabolische Knochenerkrankungen, die teilweise Bezeichnungen wie "simian bone disease" oder "cage paralysis"

erhielten (HAMERTON, 1934; DREIZEN et al., 1973; FREEDMAN et al., 1976; HAMPTON et al., 1966).

"Simian bone disease" und "cage paralyse" wurden als Manifestation eines sekundären Hyperparathyreoidismus angesehen, der sich durch übermäßige Phosphorfütterung entwickelte (DÄMMRICH, 1967 a; KROOK und BARRET, 1962). Andere Autoren sehen dagegen in einem Vitamin D-Mangel die Ursache der Knochenerkrankungen bei Neuweltaffen. Osteomalazie und Rachitis, entstanden durch Vitamin D-Unterversorgung, können dann zu einem sekundären Hyperparathyreoidismus führen (BAKER und HERBERT, 1972; DREIZEN et al., 1967; JEFFREE, 1962). Über Erfolge in der Behandlung von Knochenerkrankungen bei *Callithrix jacchus*, *Lagothrix lagotricha* und *Ateles fusciceps* durch UV-Bestrahlung und Vitamin D₃-Gaben wurde mehrfach berichtet (DEINHARDT et al., 1967; RESNIK, 1971; STARE et al., 1963).

Bei Totenkopf- und Kapuzineraffen konnten HUNT et al. (1969) durch tägliche orale Gaben von 50.000 bis 100.000 IE Vitamin D₃/Tier eine D-Hypervitaminose erzeugen, die mit Hypercalcämie, Hyperphosphatämie, metastatischen Verkalkungen und Urämie einherging. Bei täglicher Fütterung mit ca. 1.200 IE Vitamin D₃ traten bei Totenkopfaffen Todesfälle auf, die von SMILEY (1980) auf D-Hypervitaminose zurückgeführt wurden. Auch eine Erkrankung bei Krallenaffen, "Wasting marmoset syndrom" genannt, schrieb KING (1976) der D-Hypervitaminose zu.

2.6 Übersicht über Vitamin D-abhängige Blutparameter bei Krallenaffen

Zur Übersicht sind in Tabelle 2a die in der Literatur angegebenen Blutparameter Calcium, Phosphor, alkalische Phosphatase und Kreatinin bei Neuweltaffen im Vergleich zum Menschen angegeben. Die Werte für Calcium, Phosphor und Kreatinin streuen bei Neuweltaffen stärker, liegen jedoch ungefähr in den für Menschen angegebenen Normbereichen. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase ist zum Teil beträchtlich höher als beim Menschen.

Es gibt nur wenige Angaben über Normbereiche von Parathormon- und 25(OH)D-Gehalten im Serum von Krallenaffen, die der Tabelle 2b zu entnehmen sind. Im Vergleich zum Menschen sind die Parathormonwerte der Krallenaffen erheblich höher und streuen stark. Der 25(OH)D-Gehalt liegt bei Fütterung mit einer 1.000 IE Vitamin D₃-Diät unter dem Normbereich des Menschen. Bei höheren Vitamin D₃-Gaben liegt er teilweise in und teilweise über dem für den Menschen angegebenen Normbereich.

Tabelle 2 a: Blutparameter bei Krallenaffen und Menschen

Spezies	Ca mval/l	P _i mg/dl	AP U/l	Kreatinin mg/dl	Quelle
Mensch	4,3 - 5,3	2,5 - 4,8	60 - 190	0,79 - 1,2	HORN, 1984
Saguinus ssp.	5,21 (3,91 - 6,52)	5,48 (1,4 - 9,5)		0,41 - 1,95	HOLMES et al., 1967
Saguinus oedipus	4,87 (4,43 - 5,52)	4,72 (1,6 - 7,9)		0,41 - 1,95	HOLMES et al., 1967
Saguinus oedipus	4,6 ± 0,2	3,7 ± 0,4	153 ± 35		ESCAJADILLO et al., 1981
Saguinus labiatus					
männlich	5,0 ± 0,4		674 ± 832	0,79 - 1,10*	WADSWORTH et al., 1982
weiblich	5,2 ± 0,34		519 ± 280	0,75 - 1,03*	
Callithrix jacchus	4,10 - 6,70	4,3 - 13,59	73 - 335		BRUHIN, 1979
Callithrix jacchus			392 (164 - 794)		DAVY et al., 1984

* = Umrechnungsfaktor 88,40 (µmol/l → mg/dl)

Tabelle 2 b: Blutparameter bei Krallenaffen und Menschen

	IE Vitamin D ₃	25(OH)D nmol/l	Parathormon equi/l	Quelle
Mensch		50 - 300	100 - 430	HORN, 1984
Saguinus fuscicollis	1.000/kg Futter	25 ± 36	3.241 ± 3.196	KASPAR, 1983
	2.000/kg Futter	449 ± 136	1.100 ± 484	
Callithrix jacchus	1.000/kg Futter	32 ± 53	4.407 ± 3.107	
	2.000/kg Futter	112 ± 71	1.469 ± 1.307	
Callithrix jacchus	300/Tier /Tag	ca.35-510*		SHINKI et al., 1983

* = umgerechnet aus 12,4 - 204,1 ng/l (competitive protein binding assay)

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Versuchsbeschreibung und Versuchsmethodik

3.1.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Für die Versuche wurden nur adulte, dem Anschein nach gesunde Tiere herangezogen.

Im Vorversuch standen Tiere der Spezies *Saguinus fuscicollis*, *S. labiatus* und *S. mystax* zur Verfügung. Eine Hälfte der Versuchstiere waren Wildfänge mit einem Alter von mindestens 9 Jahren, die andere Hälfte war in Gefangenschaft geboren und zwischen 3 und 4 Jahre alt. Die Tiere waren paarweise in Käfigen untergebracht. Vor Versuchsbeginn betrug das durchschnittliche Körpergewicht der 11 Tiere der Spezies *Saguinus fuscicollis* 439 g, mit einer Spanne von 368 g bis 551 g. Die 6 Tiere der Spezies *Saguinus labiatus* hatten ein Gewicht zwischen 531 g und 663 g, im Durchschnitt 591 g. Von der Spezies *Saguinus mystax* konnte nur ein Paar für den Versuch eingesetzt werden. Das Männchen wog 637 g, das Weibchen 579 g.

Für den Hauptversuch wurde ein homogeneres Tiermaterial ausgesucht, und zwar ausschließlich laborgeborene männliche Tiere der Spezies *Saguinus fuscicollis* ($n = 19$). Pro Käfig wurden 1 bis 3 Tiere gehalten. Zu Versuchsbeginn betrug das Durchschnittsalter 26 Monate. Das jüngste Versuchstier war 18 Monate, das älteste 36 Monate alt. Das Körpergewicht war im Mittel 461 ± 50 g. Die Extremwerte betrugen 389 g und 564 g.

In den Nachversuch kamen 15 männliche und 15 weibliche Affen der Spezies *Saguinus fuscicollis* im Alter von 19 bis 54 Monaten. Das

Durchschnittsalter betrug 33 Monate. Die Tiere wogen im Mittel 460 g mit einer Spanne von 362 bis 522 g. Die Versuchstiere waren vorwiegend paarweise in Käfigen untergebracht.

Die Käfige, in denen sich die Versuchstiere befanden, weisen eine quadratische Fläche von $0,25 \text{ m}^2$ und eine Höhe von 75 cm auf. Der Boden besteht, wie der restliche Käfig, aus Maschendraht, durch den die Ausscheidungen auf mit Papier ausgelegte Bleche fallen. Die Papiere wurden mehrmals in der Woche ausgewechselt und die Käfige und Käfiggestelle einmal in der Woche naß gereinigt. Das Futter wurde in Schüsseln oder Futterautomaten ad libitum zur Verfügung gestellt. Als Trinkwasser wurde Leitungswasser in Nippelflaschen täglich frisch angeboten. Zusätzlich zum Tageslicht erfolgte künstliche Beleuchtung im 12 Stunden-Rhythmus. Die Raumtemperatur wurde, durch zusätzliche Heizkörper reguliert, auf 21° C bis 26° C gehalten. Mit Luftbefeuchtern wurde eine relative Luftfeuchtigkeit von 55 bis 60 % erreicht.

Die Tiere in der Zuchtkolonie erhalten als Basisnahrung eine "natural ingredient" Koloniediät (Rezeptur in Anlehnung an FLURER et al., 1983), die in der verabreichten pelletierten Form (Durchmesser 5 mm) für die Labortierhaltung praktikabel ist und dem mutmaßlichen Nährstoffbedarf gerecht wird, und als Ergänzung eine Bananennahrung täglich.

3.1.2 Versuchsplanung und Versuchsdurchführung

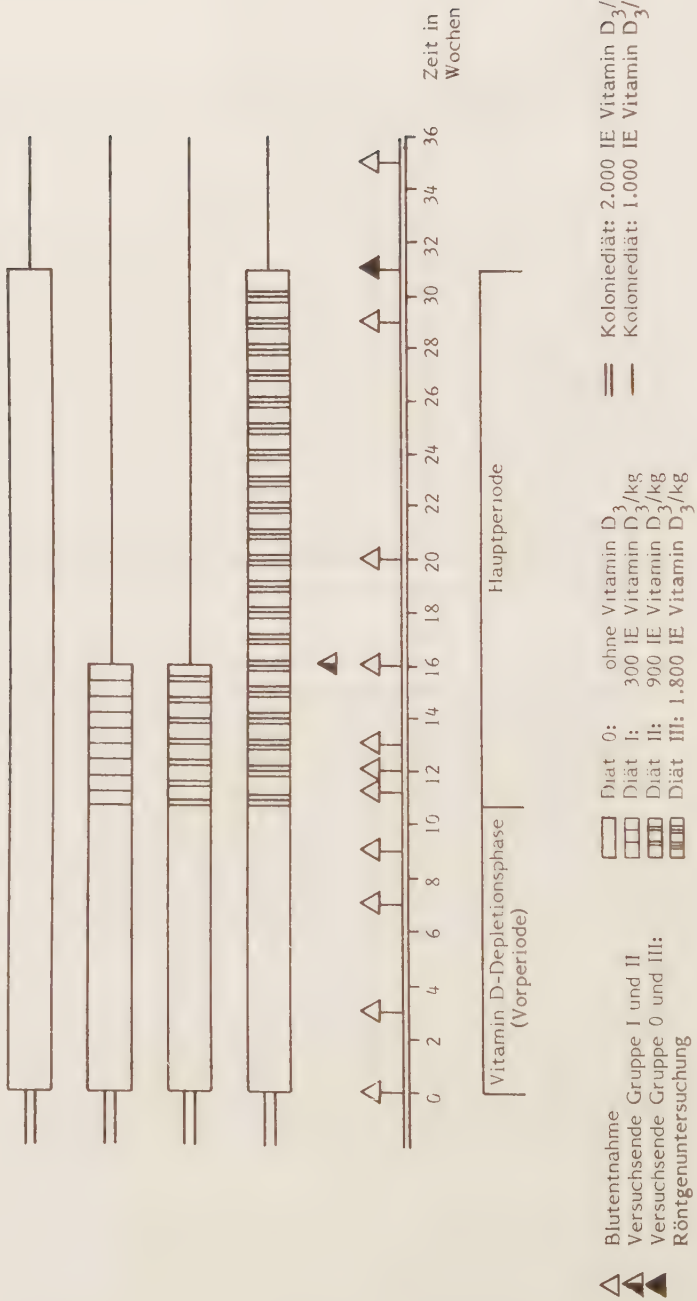
In einem 4-wöchigen **Vorversuch** wurde untersucht, ob und in welcher Weise die Tiere auf eine leichte Änderung des Vitamin D₃-Gehaltes im Bedarfsbereich ansprechen und ob die drei verschiedenen Spezies unterschiedlich reagieren. Die Futterzusammensetzung entsprach der der Koloniediät, jedoch mit einem von 1.000 IE auf 2.000 IE/kg Futter erhöhten Vitamin D₃-Gehalt. Vor und nach dem Versuch wurde eine Blutprobe genommen. Das Serum wurde auf Calcium, anorganisches Phosphat, 25(OH)D, Parathormon und Aktivität der alkalischen Phosphatase untersucht. Der Gesundheitszustand und das Körpergewicht der Tiere wurden kontrolliert.

Der **Hauptversuch** diente der näherungsweisen Bestimmung des Vitamin D₃-Bedarfs erwachsener *Saguinus fuscicollis*. Der Versuchsablauf ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt.

In der 10-wöchigen **Vorperiode** erhielten alle Versuchstiere das gleiche Vitamin D-freie Futter. Während dieser Depletionsphase sollten die Vitamin D-Reserven des Körpers erschöpft und damit eine möglichst gleiche Ausgangsbasis für die Hauptperiode geschaffen werden, in der die Tiere unterschiedlich D-vitaminisiertes Futter erhielten. Dazu wurden die Tiere in 4 Gruppen eingeteilt, wobei auf etwa gleiche Durchschnittswerte der zum Abschluß der Vorperiode bestimmten Serumparameter, besonders Parathormon und 25(OH)D, geachtet wurde. Die Blutentnahmen in der Vorperiode erfolgten in Abständen von 2 bis 4 Wochen.

Die 4 Versuchsgruppen mit jeweils 4 bis 5 Tieren erhielten in der **Hauptperiode** eine Versuchsdiät mit entweder 300 IE (= Gruppe I; n = 4), 900 IE (= Gruppe II; n = 5) oder 1.800 IE Vitamin D₃/kg (= Gruppe III; n = 5). Ein Teil der Tiere der Vorperiode wurde wei-

Abbildung 2: Zeitschema des Hauptversuches



terhin mit dem Vitamin D-freien Futter ernährt (= Gruppe 0; n = 5). Die Blutentnahmen erfolgten unmittelbar nach Beginn der Hauptperiode in kurzen Zeitabständen und jeweils zu Versuchsende, das für die Gruppen nicht einheitlich war. Für Gruppe I und II endete der Versuch nach 36 Tagen. Die Tiere der Gruppe 0 sollten bis zum Auftreten von Symptomen, die auf Vitamin D-Mangel zurückführbar sind, im Versuch bleiben und die Gruppe III sollte zum Vergleich mitgeführt werden.

Nach 215 Tagen wurde der Versuch für diese beiden Gruppen abgebrochen. Zu diesem Zeitpunkt erfolgte für diese Tiere eine Röntgenuntersuchung.

Nach Umstellung auf die übliche Koloniediät mit 1.000 IE Vitamin D₃/kg Futter wurde eine abschließende Blutentnahme nach vier Wochen durchgeführt.

Kriterien zur Beurteilung des Versuches waren:

- serologische Untersuchungen: die Vitamin D-abhängigen Parameter Parathormon, 25(OH)D, Calcium, anorganisches Phosphat und alkalische Phosphatase
- Röntgenuntersuchung (nur bestimmte Tiere, siehe Abbildung 2)
- Allgemeinbefinden
- Körpergewicht
- Futterverzehr
- Kotbeurteilung

In einem **Nachversuch** sollte untersucht werden, wie tief sich die, im Vergleich zum Menschen, überhöhten Parathormonwerte senken lassen und auf welchem Niveau sich der 25(OH)D-Spiegel und auch die anderen Blutparameter einstellen, wenn ein hoher Vitamin D-Gehalt

im Futter vorhanden ist. Damit sollte eine Eingrenzung des Normalbereiches dieser Parameter ermöglicht werden, besonders für Parathormon und 25(OH)D, da hier noch keine Richtwerte vorhanden sind.

3.1.3 Versuchsparameter

Blutuntersuchung:

Für die Beurteilung der Versuche waren die Vitamin D-abhängigen Parameter im Serum von entscheidender Bedeutung. Im Vorversuch wurde vor und nach der Versuchsperiode Blut entnommen. Im Hauptversuch erfolgten Blutentnahmen vor Versuchsbeginn, während der Vitamin D₃-Depletionsphase in der 3., 7. und 9. Woche, in der Hauptphase 3, 10 und 17 Tage nach der unterschiedlichen Vitamin D-Zufuhr und vor Abbruch des Versuchs, bei Gruppe I und II in der 16. Woche und bei Gruppe 0 und III in der 29. Woche. Nach 4-wöchiger Koloniediätfütterung wurde den Tieren ein letztes Mal Blut entnommen (siehe Abb. 2). Im Nachversuch erfolgte nur eine Blutentnahme am Ende der Versuchsperiode. Zur Blutentnahme wurden die Versuchstiere auf dem Rücken liegend fixiert. Es wurde jeweils 1,5 ml Blut aus der Vena femoralis mit einer 0,8 mm Kanüle entnommen. Bei 3.000 U/min wurde das Blut 20 Minuten lang zentrifugiert. Die Serumparameter wurden in der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München bestimmt.

Calcium, anorganisches Phosphat, Kreatinin und alkalische Phosphatase wurden mit dem automatischen Analyser "Hitachi 705" der Firma Clinicon bestimmt. Parathormon und 25(OH)D-Gehalte wurden

nach dem Auftauen der tiefgefrorenen Seren mit Radioimmunoassays gemessen.

Die Bestimmung der Serumparameter beruht auf folgenden Prinzipien:

Calcium: Ca-Ionen bilden mit o-Kresolphthalein-Komplexon in alkalischer Lösung einen violetten Komplex; photometrische Messung bei Wellenlänge Hg 578 nm (Boehringer, Mannheim).

Anorganisches Phosphat: P_i reagiert mit Ammoniummolybdat im sauren Milieu zu einem Phosphormolybdatkomplex; photometrische Messung bei Wellenlänge Hg 360 nm (Gilford Diagnostics, Cleveland).

Kreatinin: Cr bildet in alkalischer Lösung mit Pikrat einen Farbkomplex. Gemessen wird die Geschwindigkeit der Farbstoffentwicklung (Boehringer, Mannheim).

Alkalische Phosphatase-Aktivität: p-Nitrophenylphosphat in Diäthanolamin-Puffer wird durch die alkalische Phosphatase (AP) zu Phosphat und p-Nitrophenol hydrolysiert; photometrische Messung bei Hg 405 nm (Boehringer, Mannheim).

Parathormon: In einer kompetitiven Antigen-Antikörper-Reaktion (RIA) konkurrieren radiomarkiertes 1-84 bovines Parathormon und das zu bestimmende Parathormon um die Bindungsstelle eines spezifischen Bindungsproteins (Ab-Giselle, ein Schafantiserum). Hohe Pa-

rathormonkonzentrationen im Serum ergeben eine Impulsrate mit niedrigen Meßwerten. Die Reaktion wird mit einem aus Epithelkörperchenadenomen extrahierten 1-84 Humanstandard verglichen (WOOD et al., 1980; MARSCHNER et al., 1981). Die obere Nachweisgrenze für Parathormon, die jeweils vom humanen Standard abhängig ist, wird auf 10.000 equl/l festgelegt. Parathormonwerte im Serum über 10.000 equl/l erlauben keine zuverlässige Aussage mehr. Verdünnungsreihen von Krallenaffen- und Menschenseren reagierten ähnlich.

Vitamin D: 25(OH)D wird mit Hilfe von Äthanol aus dem Serum extrahiert. Anschließend wird $26,27^3\text{H}$ methyl-25(OH)D als "tracer" zugesetzt. Beide konkurrieren um eine Bindungsstelle an einem Bindungsprotein aus Kaninchenserum. Die Reaktion wird mit einem humanen, ligandenfreien Standard verglichen, dem definierte Mengen an 25(OH)D zugesetzt wurden (WIEDEMANN et al., 1982). Die Bestimmung der Zwischenstufe 25(OH)D im Serum stellt eine geeignete Methode zur Erfassung des Vitamin D-Status dar (EDELSTEIN, 1974).

Röntgenuntersuchung:

Zur Beurteilung des Mineralisierungsgrades der Knochen wurden von den Tieren der Gruppe 0 nach 215 Tagen Vitamin D-freier Ernährung Röntgenaufnahmen von Becken und Femura mit ventrodorsalem Strahlengang angefertigt. Als Vergleich dienten die Röntgenaufnahmen der Tiere aus Gruppe III, die 140 Tage mit 1.800 IE Vitamin D_3/kg Futter ernährt wurden. Zur Ruhigstellung der Tiere wurde als Mittelzeitrnarkose 0,2 ml Aurantex^R pro 100 g Körpergewicht intramuskulär verabreicht. Die Aufnahmen wurden im Abstand von 45 cm

von der Strahlenquelle mit einer Belichtungszeit von 0,5 sec, bei 60 kV und 35 mAs mit einem folienlosen, feinzeichnenden Film der Firma Kodak angefertigt. Die Röntgenuntersuchung wurde im Versuchstierlabor der Chirurgischen Universitätsklinik München durchgeführt.

Weitere Kriterien:

Tägliches, genaues Beobachten der Tiere, regelmäßige Gewichtskontrollen und Verzehrbestimmungen ergaben eine Übersicht über den Gesundheitszustand der Tiere.

Das Wiegen erfolgte, je nach Bedarf, alle ein bis zwei Wochen. Die Änderung des Körpergewichtes wurde aus der Differenz von Versuchsend- und Versuchsanfangsgewicht errechnet.

Der Futterverzehr wurde während des Großteils der Versuchszeit bestimmt, jeweils mindestens sieben Tage durchgehend, um die durch Änderungen des Tagesablaufes an Werk- und Sonntagen bedingten Unterschiede mitzuberücksichtigen. Zur Erfassung des Pelletverzehrs pro Tier und Tag wurde die Differenz von Futtereinwaage und Futterrückwaage ermittelt. Die Futterrückwaage bestand aus den nicht verzehrten Pellets und solchen, die von den Tieren "verschmissen" wurden. Die "verschmissenen" Pellets wurden von dem Papier, das täglich unter den Käfig gelegt wurde, aufgesammelt und nach Lufttrocknung gewogen. Bei zwei bzw. drei Tieren pro Käfig wurde der ermittelte Wert entsprechend halbiert bzw. gedrittelt. Der tägliche Pelletverzehr in Prozent des Körpergewichts errechnete sich aus den ermittelten Durchschnittswerten des Pelletverzehrs, prozentual bezogen auf das durchschnittliche Körpergewicht der Individuen während des Versuches.

Der Kot wurde mehrmals wöchentlich grobsinnlich auf Farbe und Konsistenz beurteilt.

3.1.4 Versuchsdiäten

Im Vorversuch erhielten die Versuchstiere ein aus natürlichen oder geringfügig veredelten Bestandteilen gemischtes Futter (natural ingredient diet), welches sich nur im Vitamin D₃-Gehalt mit 2.000 IE statt 1.000 IE Vitamin D₃/kg, von dem Koloniefutter unterschied.

Für den Hauptversuch wurden halbsynthetische Mischungen verwendet, die bereits in vorherigen ernährungsphysiologischen Studien bei Krallenaffen angewendet worden waren. In der Vorperiode bekamen alle Versuchstiere ein Vitamin D-freies Futter, Diät 0, verabreicht, mit einem Calcium : Phosphor-Verhältnis von 1,1 (Ca: 0,62 %, P: 0,56 %). Gruppe 0 behielt diese Diät in der Hauptperiode bei, während den Diäten I bis III 300 IE, 900 IE und 1.800 IE Vitamin D₃/kg Futter zugesetzt wurden.

Nach dem Versuch erhielten die Tiere Koloniefutter mit 1.000 IE Vitamin D₃ und einem Calcium : Phosphor-Verhältnis von 1,2 (Ca: 0,67 %, P: 0,54 %).

Die Zusammensetzung der Versuchsdiäten ist in Tabelle 3 angegeben.

Für die Vitaminisierung der Hauptversuchsdiäten wurde kristallines Vitamin D₃ der Firma Merck (1 g $\hat{=}$ 400 Millionen IE) in 96%igem Äthanol gelöst, mit Äther verdünnt und in 500 g Maisstärke unterge-

Tabelle 3: Zusammensetzung der Versuchsdiäten

Maisstärke	21,80 %
Saccharose	18,00 %
Glucose	16,00 %
Säure-Casein	20,90 %
Sojaöl	7,00 %
Kokosfett	5,00 %
Vitaminvormischung ¹⁾	0,50 %
Cholinchlorid	0,40 %
Spurenelemente ²⁾	0,10 %
D-L-Methionin	0,30 %
KH_2PO_4	1,80 %
Kaliumacetat	0,85 %
MgO	0,20 %
NaCl	0,65 %
CaCO_3	1,50 %
	100,00 %

Fortsetzung Tabelle 3:

- 1) Die Vitaminvormischung (Basis: Maisstärke) enthält in 5 Gramm
(= pro Kilogramm der fertigen Diät):

Retinol	10.000 IE
Cholecalciferol	entsprechend der Fragestellung
α -DL-Tocopherolacetat	100 mg
Menadion	2 mg
Thiamin	5 mg
Riboflavin	10 mg
Pyridoxin	10 mg
Nicotinsäure	40 mg
Folsäure	4 mg
Ca-D-Pantothenat	20 mg
Cobalamin	50 mcg
Biotin	1 mg
Ascorbinsäure	2.000 mg

- 2) Die Spurenelementvormischung (Basis: Magnesiumoxid) enthält
in 1 Gramm (= pro Kilogramm der fertigen Diät):

Fe (aus Eisen (III) oxid)	100,0 mg
Mn (aus Mangan (IV) oxid)	50,0 mg
Zn (aus Zinkoxid)	100,0 mg
Cu (aus Kupferoxid)	10,0 mg
Se (aus Natriumselenit x 5 H ₂ O)	0,1 mg
J (aus Kaliumjodid)	1,0 mg
F (aus Natriumfluorid)	2,0 mg
Mo (aus Natriummolybdat x 2 H ₂ O)	0,5 mg
Ni (aus Nickelsulfat x 6 H ₂ O)	0,1 mg
Cr (aus Chrom (III) chlorid x 6 H ₂ O)	0,5 mg

rührt. Nach Verdampfen des Äthers wurde die Maisstärke in die Versuchsfuttermischung untergemischt.

Im Nachversuch erhielten die Tiere die im Hauptversuch beschriebene Diät, jedoch mit Vitamin D₃-Gehalten von 2.000 IE, 4.000 IE und 8.000 IE. Als Vitamin D₃-Präparat diente hier ein neues Präparat von Hoffmann-La Roche & Co. (Basel, Schweiz), Rovimix D₃-500 (1 g $\hat{=}$ 500.000 IE).

3.1.5 Statistik

Die Meß- bzw. Rechenergebnisse werden als Mittelwerte mit Standardabweichungen angegeben. Für graphische Darstellungen wurden die errechneten Mittelwerte verwendet.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse der Blutparameter und der Röntgenbefunde erfolgte mit dem parameterfreien U-Test für unabhängige Stichproben nach WILCOXON, MAN und WHITNEY.

3.2 Versuchsergebnisse

3.2.1 Vorversuch

In der vierwöchigen Vorversuchsperiode traten bei den Tieren Gewichtsschwankungen auf von + 8 bis - 8 % des Körpergewichtes, bezogen auf das Anfangsgewicht. Zwei Tiere mit Diarrhoe verloren 6 bzw. 7 % des Anfangsgewichtes, bei einem Tier mit 8 % Gewichtsverlust konnte keine Ursache festgestellt werden. Alle Tiere waren im Versuchszeitraum lebhaft und zeigten guten Appetit.

In Tabelle 4 sind die durchschnittlichen Serumwerte der Versuchstiere nach Gaben von 1.000 IE und 2.000 IE Vitamin D₃/kg Futter angegeben. Die Serumwerte des *Saguinus mystax*-Pärchens sind einzeln aufgeführt. Die Einzelwerte von *Saguinus fuscicollis* und *S. labiatus* sind dem Anhang zu entnehmen.

Der durchschnittliche Serumcalciumgehalt bei *Saguinus fuscicollis* stieg im Versuchszeitraum von 4,6 auf 4,8 mval/l und bei *Saguinus labiatus* von 4,4 auf 4,6 mval/l an. Der anorganische Phosphatgehalt im Serum nahm bei der erstgenannten Art von 9,4 auf 8,5 mg/dl und bei *Saguinus labiatus* von 9,0 auf 8,4 mg/dl ab. Kreatinin fiel bei beiden Spezies von 0,7 auf 0,6 mg/dl. Der durchschnittliche 25(OH)D-Gehalt im Serum nahm von 89 auf 106 nmol/l bei den *Fuscicollis*-Tieren und von 78 auf 83 nmol/l bei den *Labiatus*-Tieren zu. Die Einzelwerte streuten stark. Es sind daher weder innerhalb noch zwischen den Spezies *Saguinus fuscicollis* und *S. labiatus* hinsichtlich der oben genannten Blutparameter signifikante Unterschiede zu verzeichnen. Die Werte der beiden *Saguinus mystax*-Versuchstiere bewegten sich im gleichen Bereich.

Tabelle 4: Durchschnittliche Blutparameter mit Standardabweichung von *Saguinus fuscicollis*, *Saguinus labiatus* und *Saguinus mystax* bei Fütterung mit 1.000 IE Vitamin D₃/kg Futter (I) und nach 4 Wochen mit 2.000 IE Vitamin D₃/kg Futter (II)

		25(OH)D nmol/l	PTH equl/l	AP U/l	P _i mg/dl	Ca mval/l	Kreatinin mg/dl
Saguinus fuscicollis n=11	I	89 ± 84	1174 ^a ± 835	179 ± 79	9,4 ± 2,3	4,6 ± 0,3	0,7 ± 0,1
	II	106 ± 54	889 ± 384	135 ^b ± 63	8,5 ± 1,6	4,8 ± 0,5	0,6 ± 0,1
Saguinus labiatus n=6	I	78 ± 106	1998 ^a ± 1210	198 ± 79	9,0 ± 2,1	4,4 ± 0,5	0,7 ± 0,1
	II	83 ± 63	1161 ± 370	228 ^b ± 122	8,4 ± 1,3	4,6 ± 0,5	0,6 ± 0,1
Saguinus mystax *	I	61 72	720 <70	531 451	9,0 9,9	5,3 8,3	0,7 0,9
	II	58 117	1192 942	97 90	9,7 9,5	5,1 4,7	0,6 0,5

I = nach langdauernder ausschließlicher Fütterung mit Koloniediät mit 1.000 IE Vitamin D₃/kg Futter

II = nach 4-wöchiger ausschließlicher Fütterung mit Koloniediät mit 2.000 IE Vitamin D₃/kg Futter

* = Einzelwerte angegeben, da nur zwei Tiere

a = signifikanter Unterschied zwischen *Saguinus fuscicollis* und *labiatus* ($p \leq 0,01$)

b = signifikanter Unterschied zwischen *Saguinus fuscicollis* und *labiatus* ($p \leq 0,025$)

Bezüglich der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum verhielten sich die Tiere unterschiedlich. Waren vor Versuchsbeginn keine bedeutenden Unterschiede festzustellen, so stieg im Versuch bei *S. labiatus* die durchschnittliche Aktivität von 198 auf 288 U/l an, und bei *S. fuscicollis* fiel sie von 179 auf 135 U/l ab (signifikanter Unterschied zwischen beiden Spezies, $p \leq 0,01$). Die Parathormonwerte von *S. labiatus* sind zu Versuchsbeginn signifikant höher ($p \leq 0,025$) als bei *S. fuscicollis*. Nach vierwöchiger Erhöhung des Vitamin D₃-Gehaltes im Futter verminderte sich der Ausgangswert von Parathormon um 30 % bei *S. labiatus*, während bei den anderen Versuchstieren die Abnahmen geringer waren.

3.2.2 Hauptversuch

3.2.2.1 Serumparameter der Versuchstiere: Calcium, anorganisches Phosphat, alkalische Phosphatase, 25(OH)D, Parathormon

In der 75 Tage langen Vitamin D-Depletionsperiode sollten die Vitamin D-Reserven erschöpft werden. Die Auswirkungen auf die Vitamin D-abhängigen Blutparameter wurden in diesem Zeitraum gemessen.

In der Hauptperiode erhielten drei Versuchstiergruppen unterschiedliche Vitamin D-Gehalte über das Futter. Die Reaktion der Blutparameter wurde untersucht und mit einer vierten Versuchstiergruppe, die weiterhin Vitamin D-freie Diät erhielt, verglichen.

Die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen sind in der Tabelle 6 und 6 a angegeben. Die Einzelwerte von Calcium, anorganischem Phosphat, alkalischer Phosphatase, 25(OH)D und Parathormon im Serum werden im Anhang aufgeführt. Da Parathormonwerte über 10.000 equl/l nicht mehr zuverlässig bestimmt werden können, werden sie in Berechnungen mit 10.000 definiert. 25(OH)D-Gehalte unter 30 nmol/l werden aus vergleichbarem Grund mit 0 gleichgesetzt.

Vorperiode:

Die Mittelwerte mit den Standardabweichungen der untersuchten Blutparameter sind der Tabelle 5 zu entnehmen. Abbildung 3 zeigt den Verlauf dieser Blutwerte in der Vitamin D-Depletionsphase.

Der **Serumcalciumgehalt** von durchschnittlich $4,9 \pm 0,3$ mval/l fiel in der dritten Versuchswoche auf $4,5 \pm 0,5$ mval/l signifikant ab ($p \leq 0,01$) und änderte sich bis zur 9. Depletionswoche nicht mehr.

Der durchschnittliche Gehalt an **anorganischem Phosphat** im Serum stieg von $7,9 \pm 2,3$ mg/dl auf $8,6 \pm 1,5$ mg/dl in der 3. Woche signifikant an ($p \leq 0,5$) und erhöhte sich weiter auf $8,9 \pm 1,8$ mg/dl in der 7. Woche. Durch die Abnahme des Phosphatgehaltes auf $8,3 \pm 1,9$ mg in der 9. Woche ist, im Vergleich zum Versuchsbeginn, kein bedeutender Unterschied mehr zu verzeichnen.

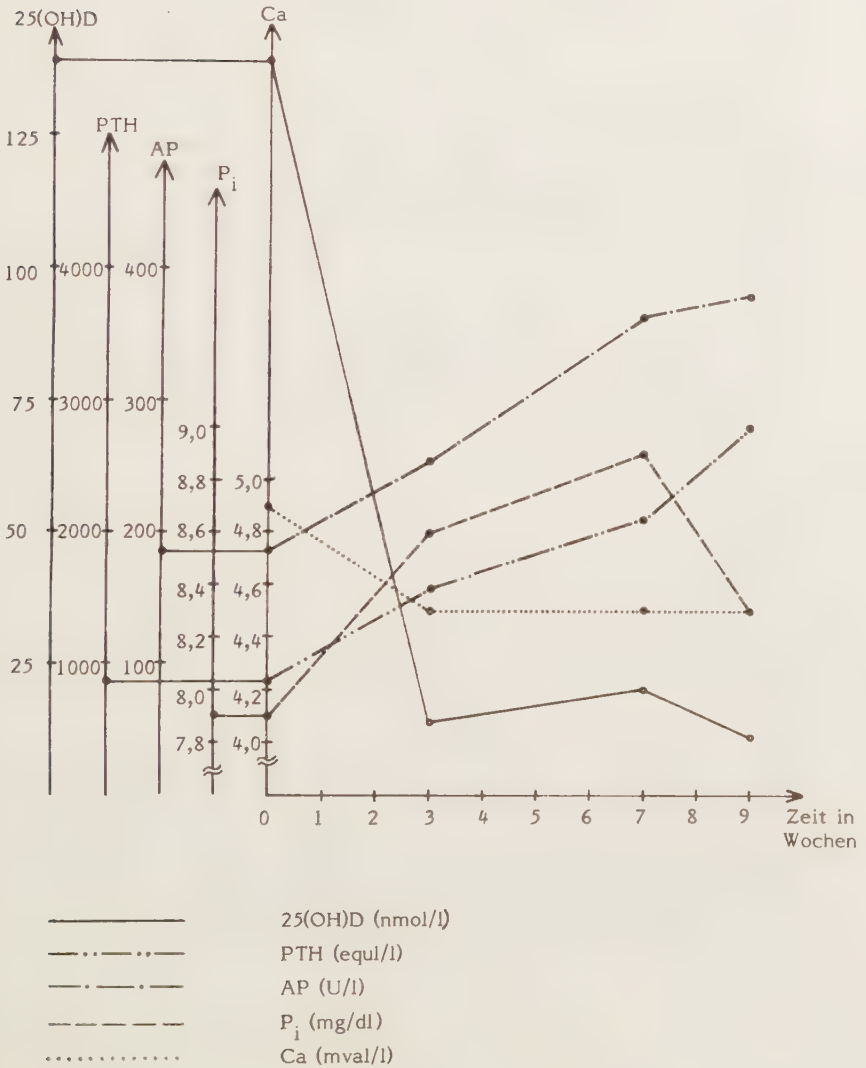
Die **Aktivität der alkalischen Phosphatase** im Serum nahm kontinuierlich zu. Von durchschnittlich 188 ± 47 U/l stieg der Wert in der 9. Woche auf 381 ± 199 U/l an ($p \leq 0,001$). Vor Versuchsbeginn lag der höchste Wert bei 303 U/l.

Tabelle 5: Blutparameter von *Saguinus fuscicollis* in der Vitamin D₃-Depletionsphase (als Mittelwerte, mit Standardabweichung)

Blutparameter n=19	Vor Versuchsbeginn	Depletionsphase Woche		
		3	7	9
Ca mval/l	4,9 ± 0,3	4,5 ± 0,5	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,4
P _i mg/dl	7,9 ± 2,3	8,6 ± 1,5	8,9 ± 1,8	8,3 ± 1,9
AP U/l	188 ± 47	255 ± 88	364 ± 169	381 ± 199
PTH equl/l	856 ± 541	1585 ± 1966	2101 ± 1583	2820 ± 1803
25(OH)D nmol/l	139 ± 56	14 ± 23	20 ± 28	11 ± 18

n = Anzahl der Tiere

Abb. 3: Blutparameter in der Vitamin D₃-Depletionsphase (Vorperiode)
bei 19 Tieren der Spezies *Saguinus fuscicollis*



Der **25(OH)D-Gehalt** im Serum betrug bei der 1. Blutuntersuchung durchschnittlich 139 ± 56 nmol/l. Die Werte reichten von 40 - 286 nmol/l. In der 3. Woche der Vitamin D-Depletion hatten 13 von 19 Versuchstieren einen 25(OH)D-Gehalt unter 30 nmol/l. Nach der deutlichen Abnahme bis zur 3. Woche ($p \leq 0,001$) war kein weiterer Abfall des durchschnittlichen 25(OH)D-Spiegels mehr festzustellen.

Der **Parathormongehalt** im Serum lag vor Versuchsbeginn im Durchschnitt bei 856 ± 541 equl/l, mit Extremwerten von 384 und 2.210 equl/l. In der 3. Woche stieg der Wert signifikant auf durchschnittlich 1.585 ± 1.966 equl/l an ($p \leq 0,01$) und hatte in der 9. Woche nahezu das Dreifache des Ausgangswertes, nämlich 2.820 ± 1.803 equl/l, erreicht.

Bei der Einteilung in die Versuchstiergruppen für die Hauptperiode wurde, soweit wie möglich, auf eine ausgewogene Verteilung der Blutparameter geachtet, so daß die 4 Gruppen sich bezüglich der Durchschnittswerte nur wenig voneinander unterschieden.

Hauptperiode:

Die Abbildungen 4 - 8 zeigen die Blutwerte der einzelnen Gruppen 0 bis III im Versuchszeitraum. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind der Tabelle 6 und 6 a zu entnehmen.

Der durchschnittliche **Serumcalciumgehalt** der Versuchstiere der Gruppe I, die 300 IE Vitamin D_3 /kg Diät erhielten, variierte zwischen 4,3 mval/l und 5,0 mval/l. Über die gesamte Versuchsdauer sind keine signifikanten Veränderungen zu verzeichnen.

Der durchschnittliche Calciumspiegel der Tiere, die 900 IE Vitamin D_3 /kg Diät erhielten, blieb bis 17 Tage nach der Umstellung

Abb. 4: Serum-Calcium-Spiegel

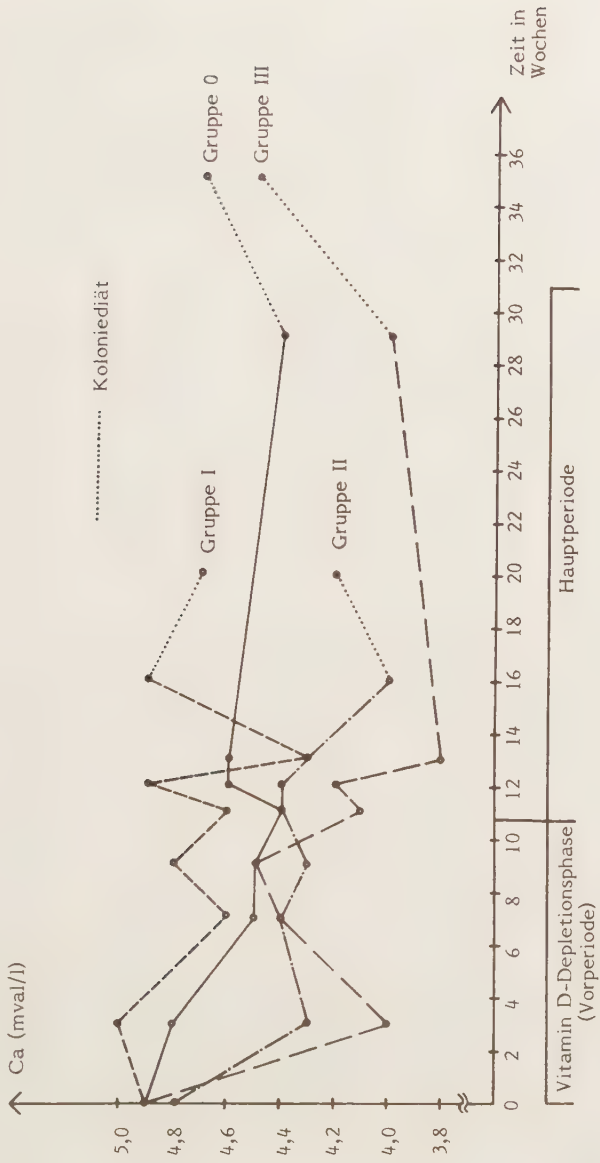


Tabelle 6: Serumparameter der Gruppen 0-III als Durchschnittswerte,
mit Standardabweichung

Parameter	Gruppe	Koloniediät 2.000 IE Vitamin D ₃ /kg		Diät 0 Vitamin D-Depletionsphase (Vorperiode)			
		Woche		0		3	
Ca mval/l	0	4,9	± 0,5	4,8	± 0,4	4,5	± 0,3
	I*	4,9	± 0,2	5,0	± 0,4	4,6	± 0,2
	II	4,8	± 0,1	4,3	± 0,5	4,4	± 0,3
	III	4,9	± 0,4	4,0	± 0,4	4,4	± 0,4
P _i mg/dl	0	6,8	± 1,5	8,0	± 0,8	8,6	± 2,3
	I*	8,8	± 3,5	9,6	± 2,3	8,3	± 0,8
	II	7,8	± 2,3	8,6	± 1,8	9,2	± 2,5
	III	8,3	± 2,1	8,6	± 0,8	9,3	± 1,6
alkalische Phosphatase U/l	0	179	± 16	279	± 55	437	± 161
	I*	207	± 42	260	± 93	297	± 115
	II	221	± 54	289	± 109	465	± 215
	III	150	± 41	195	± 84	245	± 74
25(OH)D nmol/l	0	121	± 52	21	± 31	22	± 31
	I*	201	± 65	23	± 27	49	± 34
	II	104	± 41	0	± 0	0	± 0
	III	144	± 30	15	± 21	13	± 18
Parathormon equl/l	0	551	± 141	980	± 242	1985	± 879
	I*	999	± 792	883	± 228	1400	± 200
	II	1061	± 721	3160	± 3500	3372	± 2654
	III	841	± 342	1177	± 881	1507	± 681
	0	2408	± 1047	2608	± 2112	3691	± 2827
	I*	2546	± 947				
	II						
	III						

Tieranzahl = 5

* = 4

Tabelle 6a: Serumparameter der Gruppen 0-III als Durchschnittswerte, mit Standardabweichung (die Blutparameter und die Gruppenzugehörigkeit entsprechen der Tabelle 6)

Diät I bzw. II, III 0 Hauptperiode								Koloniediät 1.000 IE Vitamin D ₃ /kg 20/35 ³	
Woche 11		12		13		16/29			
4,4	± 0,2	4,6	± 0,2	4,6	± 0,4	4,4	± 0,2	4,7	± 0,4
4,6	± 0,3	4,9	± 0,4	4,3	± 0,4	4,9	± 0,4	4,7	± 0,4
4,4	± 0,4	4,4	± 0,4	4,3	± 0,3	4,0	± 0,5	4,2	± 0,4
4,1	± 0,7	4,2	± 1,0	3,8	± 0,8	4,0	± 0,6	4,5*	± 0,5
8,4	± 1,0	8,3	± 1,2	6,9	± 1,0	7,3*	± 1,5	6,3	± 1,3
8,1	± 0,5	8,7	± 1,1	7,0	± 1,1	10,5	± 1,5	5,6	± 1,7
8,0	± 0,8	8,3	± 1,3	7,6*	± 1,0	7,3*	± 1,4	3,7*	± 1,3
10,3	± 1,6	9,1	± 1,9	9,2	± 0,8	5,9*	± 2,0	7,1*	± 2,7
454	± 122	425	± 107	441	± 127	651*	± 253	396	± 114
409	± 110	431	± 110	451	± 93	445	± 114	252	± 62
625	± 487	586	± 363	609*	± 290	546*	± 268	387*	± 247
346	± 54	301	± 84	247	± 65	228	± 58	196*	± 151
35	± 22	25	± 23	7	± 16	16	± 22	7	± 16
47	± 34	52	± 12	42	± 4	8	± 16	56	± 8
13	± 18	27	± 15	20*	± 23	0*	± 0	49*	± 34
32	± 20	46	± 56	48	± 35	29	± 29	17*	± 20
1719	± 563	2545	± 1515	2133	± 859	6398	± 3363	6874	± 2455
3825	± 4135	4013	± 4016	4486	± 3757	4490	± 2443	948	± 323
4042*	± 4083	4478	± 3382	3835*	± 4219	4317*	± 3491	2727*	± 2878
2381	± 1001	2345	± 1750	3003	± 1727	2332	± 1609	4013*	± 1492

Tieranzahl = 5

* = 4

auf $4,3 \pm 0,3$ mval/l und fiel weiter ab auf $4,0 \pm 0,5$ mval/l in der 16. Woche. Vier Wochen nach Versuchsende stieg der durchschnittliche Calciumgehalt auf $4,2 \pm 0,4$ mval/l leicht an, erreichte jedoch den Versuchsanfangswert mit $4,8 \pm 0,1$ mval/l nicht.

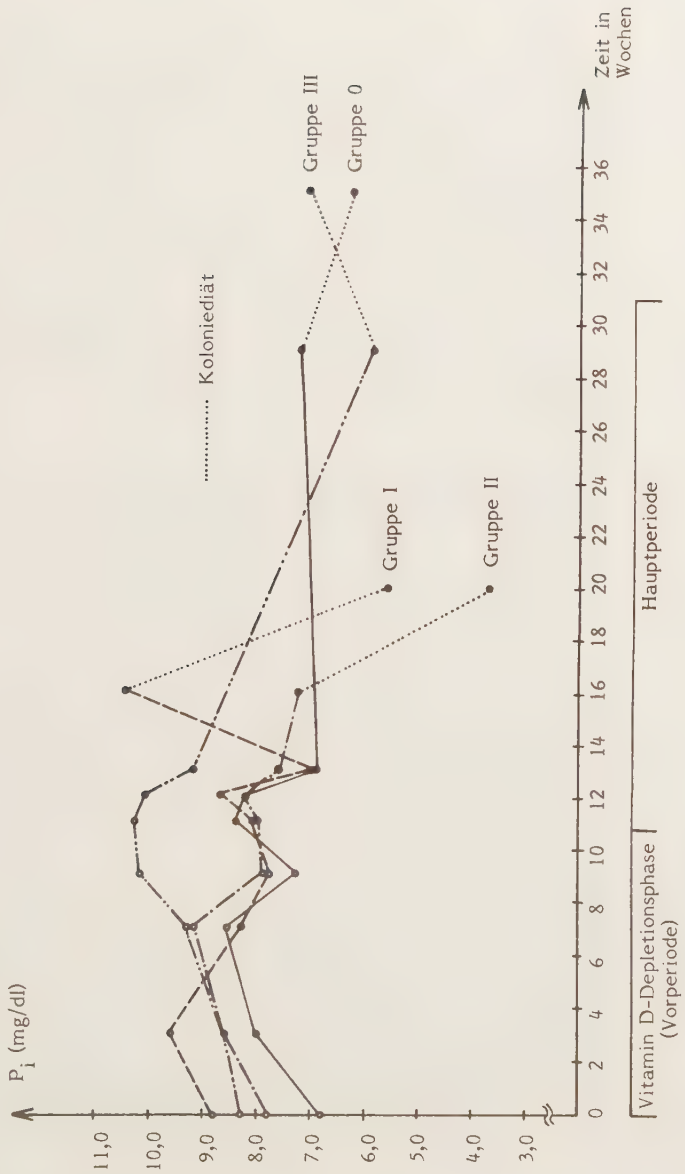
In der Gruppe III nahm nach der Umstellung auf 1.800 IE Vitamin D₃/kg Diät die durchschnittliche Serumcalciumkonzentration von $4,5 \pm 0,5$ mval/l auf $4,0 \pm 0,6$ mval/l in der 29. Woche des Versuches ab und stieg nach 4-wöchiger Koloniediätfütterung auf $4,5 \pm 0,5$ mval/l an.

Bei den Tieren der Gruppe 0, die weiterhin Vitamin D-frei ernährt wurden, traten nur unbedeutende Schwankungen des Calciumgehaltes im Serum von durchschnittlich 4,4 bis 4,6 mval/l auf. Nach der Umstellung auf Koloniefutter nahm der Calciumspiegel von $4,4 \pm 0,2$ mval/l auf $4,7 \pm 0,4$ mval/l leicht zu, ohne jedoch den Wert vor Versuchsbeginn von $4,9 \pm 0,5$ mval/l zu erreichen. Bezüglich der Calciumdurchschnittswerte gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Der durchschnittliche **anorganische Phosphatgehalt** im Serum von Gruppe 0 bis III stieg von der 9. bis zur 11. Woche (Gruppe 0: $p \leq 0,05$) bzw. bis zur 12. Woche an und fiel anschließend bis zur 13. Woche ab (Gruppe 0: $p \leq 0,05$).

In der Gruppe I ist ein signifikanter Anstieg der durchschnittlichen anorganischen Phosphatwerte im Serum von $7,0 \pm 1,0$ mg/dl in der 13. Woche auf $10,5 \pm 1,5$ mg/dl in der 16. Woche zu verzeichnen ($p \leq 0,05$), während bei Gruppe II der anorganische Phosphat Spiegel von $7,6 \pm 1,0$ mg/dl auf $7,3 \pm 1,4$ mg/dl leicht abnimmt. Vier Wochen nach Versuchsende war ein deutlicher Abfall des durchschnittlichen anorganischen Phosphatgehaltes in Gruppe I auf $5,6 \pm 1,7$ mg/dl und in Gruppe II auf $3,7 \pm 1,3$ mg/dl ($p \leq 0,05$) festzustellen.

Abb. 5: anorganisches Phosphat im Serum



In Gruppe III war zu Versuchsende der anorganische Serumphosphatgehalt auf $5,9 \pm 2,0$ mg/dl abgesunken ($p \leq 0,05$), während in Gruppe 0 keine bedeutende Änderung zu verzeichnen war. Nach 4-wöchiger Koloniediätfütterung stieg der anorganische Phosphatspiegel im Serum der Gruppe III auf $7,1 \pm 2,7$ mg/dl an. In Gruppe 0 fiel er dagegen auf $6,3 \pm 1,3$ mg/dl ab. 17 Tage nach der unterschiedlichen Vitamin D₃-Gabe über das Futter sind signifikante Unterschiede im durchschnittlichen Serumphosphatspiegel in den Gruppen 0 bis III zu verzeichnen. Die Tiere der Gruppe III haben signifikant höhere Phosphatgehalte im Serum als die Tiere der Gruppe 0 ($p \leq 0,01$), der Gruppe I ($p \leq 0,025$) und der Gruppe II ($p \leq 0,05$).

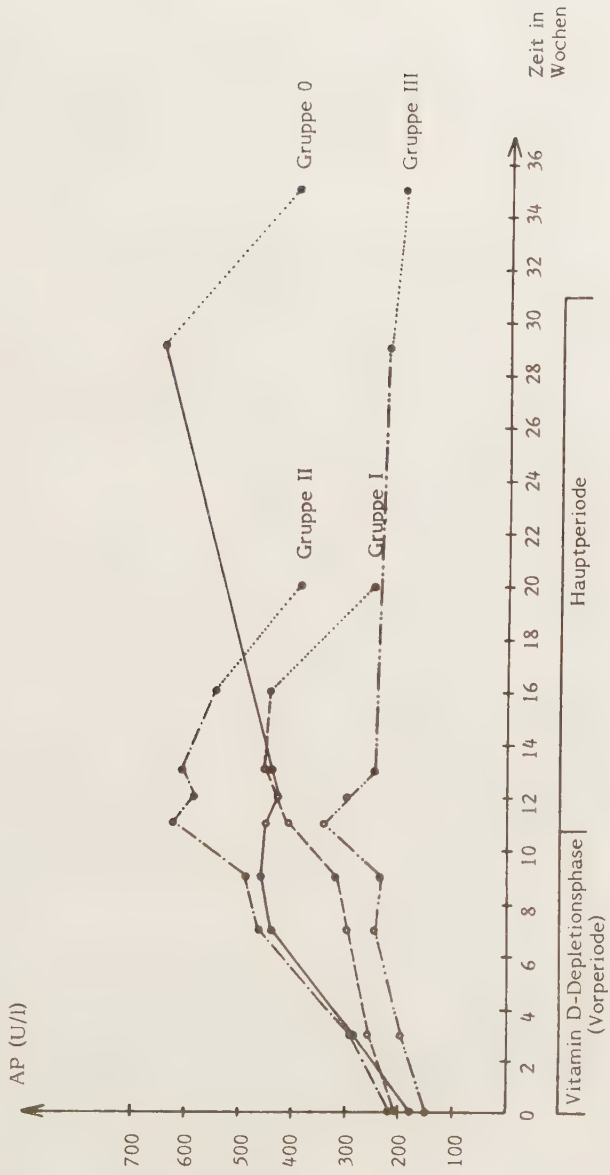
Die Aktivität der **alkalischen Phosphatase** im Serum nahm bei Gruppe I nach der Umstellung weiter auf durchschnittlich 451 ± 93 U/l in der 13. Woche zu und blieb dann bis zur 16. Woche auf diesem Niveau. Nach Versuchsende fiel der durchschnittliche Gehalt an alkalischer Phosphatase im Serum auf 252 ± 63 U/l ab und lag somit nur noch wenig über dem Versuchsanfangswert von 207 ± 42 U/l.

In der Gruppe II war die maximale Aktivität der alkalischen Phosphatase 3 Tage nach der Vitamin D₃-Gabe über das Futter mit 625 ± 487 U/l erreicht und fiel nur wenig bis zur 16. Versuchswoche auf 546 ± 268 U/l ab. Nach 4-wöchiger Koloniediätfütterung war ein stärkerer Abfall des Serumgehaltes der alkalischen Phosphatase auf 387 ± 247 U/l zu verzeichnen.

In der Gruppe III hatte die alkalische Phosphatase ebenfalls drei Tage nach der Umstellung den mit 346 ± 54 U/l höchsten Durchschnittswert erreicht und fiel bis zum 17. Tag nach der Umstellung signifikant auf 247 ± 65 U/l ab ($p \leq 0,05$). Die alkalischen Phosphatasewerte der Gruppe III vor Versuchsbeginn mit 150 ± 41 U/l und nach Versuchsende mit 196 ± 151 U/l unterscheiden sich wenig.

Beim Vergleich der einzelnen Gruppen konnte festgestellt werden, daß die durchschnittlichen alkalischen Phosphatasegehalte von Grup-

Abb. 6: Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum



..... Kolonidiät

pe 0 und I in der 13. Woche deutlich über dem Wert der Gruppe III liegen (Gruppe 0: $p \leq 0,05$ und Gruppe I: $p \leq 0,01$) und daß zwischen Gruppe 0 und III der Unterschied bis 4 Wochen nach Versuchsende bestehen bleibt ($p \leq 0,05$).

Die durchschnittlichen **25(OH)D-Serumkonzentrationen** der Versuchstiere in Gruppe I und II stiegen bis zum 10. Tag nach der Umstellung signifikant an ($p \leq 0,025$) und fielen bis zum 36. Tag wieder deutlich ab (Gruppe I: $p \leq 0,025$). Vier Wochen nach Koloniediätfütterung mit 1.000 IE Vitamin D_3 /kg lagen die 25(OH)D-Werte bei 7 von 8 Tieren über der unteren Nachweisgrenze. Die Tiere hatten jedoch, bei Gruppe I mit 56 ± 8 nmol/l und bei Gruppe II mit 49 ± 34 nmol/l, ihren Ausgangswert von 207 ± 42 nmol/l bzw. 221 ± 54 nmol/l noch nicht erreicht.

In der Hauptperiode und nach Versuchsende sind zwischen den Gruppen 0 und III keine signifikanten Unterschiede der durchschnittlichen Serum-25(OH)D-Spiegel zu verzeichnen. Bei den Tieren der Gruppe III, die 1.800 IE Vitamin D_3 /kg Diät erhielten, erhöhte sich der durchschnittliche 25(OH)D-Gehalt in der 13. Woche auf 48 ± 35 nmol/l. Er sank in der 29. Woche auf 29 ± 29 nmol/l und nahm nach 4-wöchiger Koloniefütterung auf 17 ± 20 nmol/l ab. In der Gruppe 0 hatten nach 29 Wochen Vitamin D-freier Ernährung noch 2 Versuchstiere Serum-25(OH)D-Gehalte, die wenig über der unteren Nachweisgrenze lagen. Vier Wochen nach Versuchsende war nur bei einem Tier der Wert über 30 nmol/l, trotz Fütterung mit Koloniediät mit 1.000 IE Vitamin D_3 /kg.

Der durchschnittliche **Parathormongehalt** im Serum der Gruppe I stieg bis zum 17. Tag nach Umstellung auf 300 IE Vitamin D_3 /kg Diät an und blieb auf diesem Niveau bis zum Versuchsende. Nach 4-wöchiger Koloniediätfütterung fiel der Parathormonwert von

Abb. 7: Serum-25(OH)D-Spiegel

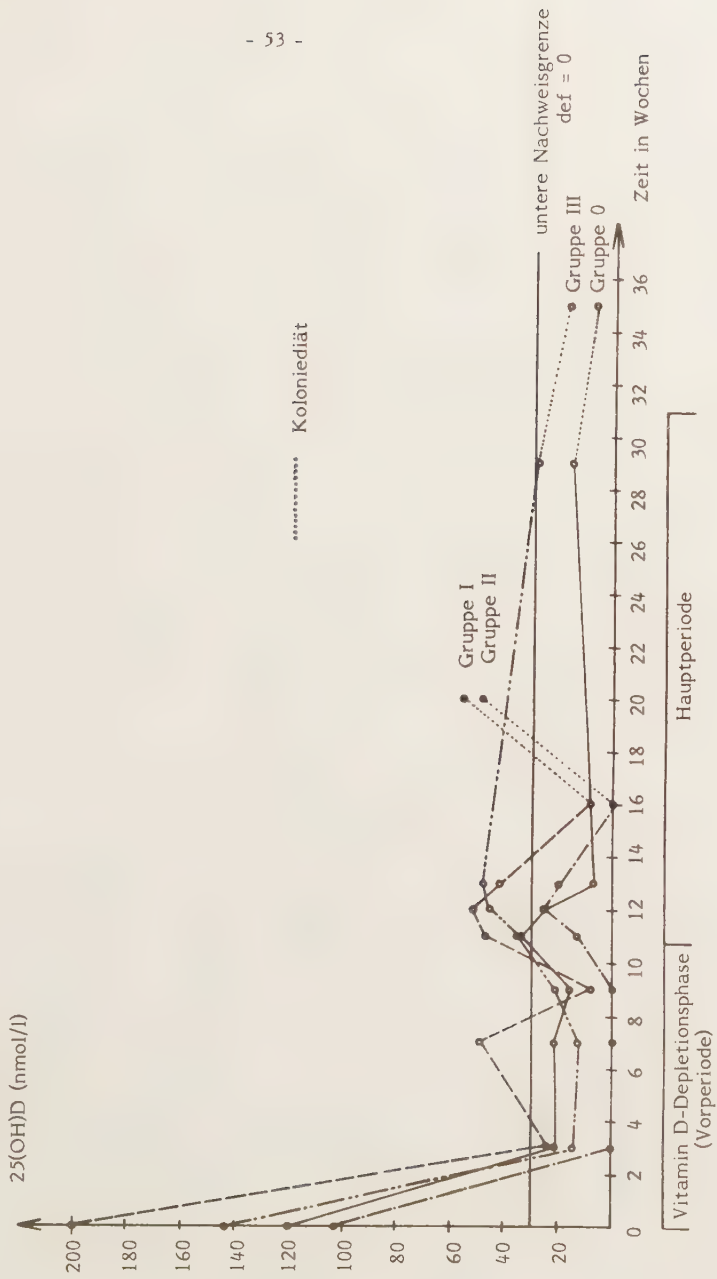
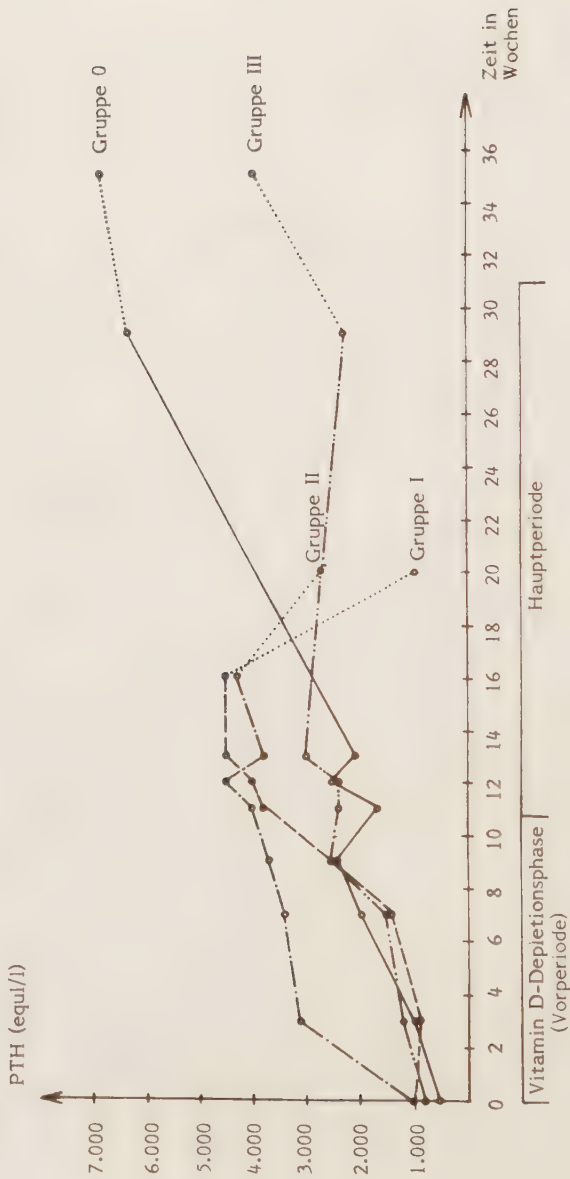


Abb. 8: Serum-Parathormon-Spiegel



..... Koloniediat

4.490 ± 3.443 equl/l auf 948 ± 323 equl/l ab ($p \leq 0,025$) und erreichte somit ungefähr den Anfangsgehalt von 999 ± 792 equl/l.

Nach Zufuhr von 900 IE Vitamin D_3 /kg Diät hielten die Tiere der Gruppe II ihren höchsten durchschnittlichen Parathormonspiegel von 4.478 ± 3.382 equl/l in der 12. Woche bis zur 16. Woche aufrecht. Nach Versuchsende fiel der Wert von 4.317 ± 4.391 auf 2.727 ± 2.878 equl/l ab. Der höchste durchschnittliche Gehalt von Parathormon im Serum der Gruppe III mit 3.003 ± 1.727 equl/l in der 13. Woche sank zu Versuchsende bis auf 2.332 ± 1.609 equl/l und stieg bis zur 35. Woche bei Fütterung mit Koloniediät mit 1.000 IE Vitamin D_3 /kg wieder auf 4.013 ± 1.492 equl/l an.

Die Vitamin D-depletierten Tiere der Gruppe 0 zeigten zwischen der 9. und 13. Versuchswoche keine bedeutenden Veränderungen im Serumparathormonspiegel. Die Werte variierten zwischen ca. 1.700 und 2.500 equl/l mit relativ kleiner Streuung. Zu Versuchsende ist eine signifikante Parathormonzunahme auf 6.398 ± 3.363 equl/l zu verzeichnen, die sich trotz 4-wöchiger Koloniediät weiter auf durchschnittlich 6.874 ± 2.455 equl/l erhöht.

Die Parathormonspiegel im Serum der Gruppe 0 sind nach 29-wöchiger Vitamin D-Depletion signifikant höher als in Gruppe III ($p \leq 0,025$). Die obere Nachweisgrenze von Parathormon ist in der 11. Woche von einem Tier der Gruppe I, in der 13. Woche von der Gruppe II und in der 29. Woche von 2 Tieren aus der Gruppe 0 erreicht worden. Der niedrigste individuelle Parathormongehalt lag bei 384 equl/l vor Versuchsbeginn.

Beim Vergleich der Gruppen untereinander verhielten sich die 25(OH)D-Spiegel der Gruppen I und II sehr ähnlich. Der 25(OH)D-Gehalt der Gruppe II verlief parallel zur Gruppe I, auch nach Umstellung auf 1.000 IE Vitamin D_3 /kg Koloniefutter. In Gruppe II bestanden von Anfang an niedrigere Durchschnittswerte. Im Serum der

Gruppe 0 war der 25(OH)D-Gehalt 4 Wochen nach Versuchsende nicht nachweisbar.

Die Parathormonspiegel in Gruppe I und II zeigten einen ähnlichen Verlauf, jedoch erreichte Gruppe II bei 900 IE Vitamin D₃/kg Diät ihr Parathormonmaximum eine Woche früher. In Gruppe III stieg Parathormon weniger steil, und der nach 17 Tagen Vitamin D₃-Zufuhr erreichte Höchstwert lag deutlich unter jenen der Gruppen I und II. Der Parathormonspiegel der Vitamin D-depletierten Tiere erhöhte sich bis nach Versuchsende. Bei Fütterung von 1.000 IE Vitamin D₃/kg Koloniediät fiel der Parathormongehalt der Gruppen 0, I und II ab. Bei Gruppe I erreichte er sogar den Ausgangswert. Bei Senkung der Vitamin D₃-Konzentration im Futter der Gruppe III von 1.800 IE auf 1.000 IE/kg stieg der Parathormongehalt an.

In Gruppe II und III, die 900 IE und 1.800 IE Vitamin D₃/kg Diät erhielten, erreichte die Aktivität der alkalischen Phosphatase 3 Tage nach der Umstellung und bei den Tieren, die 300 IE Vitamin D₃/kg Diät erhielten, 10 Tage danach den Höchstwert. Bis Versuchsende blieb die alkalische Phosphatase in Gruppe I konstant, fiel in Gruppe II leicht und in Gruppe III stärker ab.

Die durchschnittlichen Serumcalciumspiegel der Gruppen 0, II und III fielen im Versuch ab. Der Calciumgehalt der Gruppe I variierte. Die durchschnittlichen Phosphatspiegel stiegen in allen Gruppen bis zur 12. Woche an und nahmen anschließend unterschiedlich stark ab, mit Ausnahme einer einmaligen Erhöhung in Gruppe I.

3.2.2.2 Röntgenuntersuchung

Von den Tieren der Gruppen 0 und III wurden zu Versuchsende zur Kontrolle Röntgenaufnahmen angefertigt und verschiedenen Begutachtern, sowohl aus der Tier- als auch Humanmedizin, vorgelegt. Diese sollten, ohne daß die Gruppenzugehörigkeit vorher mitgeteilt wurde, feststellen, ob zwischen den 215 Tage lang depletierten Tieren und den mit 1.800 IE Vitamin D₃ gefütterten Tieren Unterschiede in der Mineralisierung und Struktur des Skelettes bestehen.

Das Ergebnis der Röntgenuntersuchung ist in Tabelle 7 aufgezeigt (8 Begutachter).

Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen besteht nicht. Einerseits wurden bei einem Versuchstier der Gruppe III Anzeichen, andererseits bei einem Tier der Gruppe 0 keine Anzeichen einer erhöhten Strahlentransparenz von den meisten Begutachtern festgestellt.

3.2.2.3 Verzehr

Die Verzehrsbestimmung wurde an 10 Käfigen mit insgesamt 19 Tieren vorgenommen. Eine individuelle Bestimmung der Tagesverzehrsmenge war nicht bei allen Tieren möglich, da sich bis zu drei Affen in einem Käfig befanden und somit nur ein Durchschnittswert pro Tier gebildet werden konnte. Hinzu kommen noch Fehlerquellen, die eine exakte Angabe nicht zulassen. Darunter fallen methodische Fehler bei der Pelletrückwaage. Die auf das Papier gefallen Pellets waren zum Teil mit Kot und Urin verunreinigt. Mitunter rollten die Pellets zu den Nachbarkäfigen und auf den Stallboden. Somit ist die tatsächliche Futteraufnahme eher gering zu beurteilen.

Tabelle 7: Ergebnis der Röntgenuntersuchung von 9 Versuchstieren

Röntgenbild								
Gruppe 0					Gruppe III			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
+	+	+	+	+	+	+	+	-
+	+	+	+	+	+	+	+	-
+	+	+	+	-	+	-	-	-
+	+	+	+	-	+	-	-	-
+	+	+	+	-	+	-	-	-
+	+	+	-	-	+	-	-	-
+	-	-	-	-	-	-	-	-
+	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = Anzeichen einer verminderten Mineralisierung vorhanden

- = keine Anzeichen einer verminderten Mineralisierung vorhanden

Tabelle 8: Durchschnittlicher Futterverzehr ¹⁾ pro Tier und Tag
in g und in % des Körpergewichtes

Gruppe	0	I	II	III
Anzahl der Tiere	5	4	5	5
Pelletverzehr in g/Tier/Tag	29*	27*	21*	26 ^o
	20*	21*	28*	32*
	18		28	
Pelletverzehr in % des Körpergewichtes	5,8*	5,6*	5,0*	5,5 ^o
	4,7*	4,9*	6,6*	7,0*
	4,7		6,3	

* = gemittelter Wert von 2 Tieren

o = gemittelter Wert von 3 Tieren

¹⁾ Grundlage bildet die Trockensubstanz der unverarbeiteten
Futtermischung (TS $\approx$ 94 %)

Durch unregelmäßige Fütterungszeiten an den Wochenden, bedingt durch den Reinigungssturnus sowie durch die individuelle Schwankung in der Futteraufnahme kamen z.T. erhebliche Streuungen der Tagesverzehrsmenge zustande. Die wöchentlichen Durchschnitte der einzelnen Tiere waren dagegen vergleichbar.

Im Verlauf des Versuches blieb die durchschnittliche Futteraufnahme in 9 Käfigen konstant. Ein Tier zeigte eine gesteigerte Futteraufnahme gegen Ende der Versuchszeit, bei gleichzeitig schlechtem Allgemeinbefinden und Gewichtsverlust. Tieren, die Gewicht verloren, wurde die Diät in Breiform angeboten (1 : 3 mit Wasser angerührt). Da sich jedoch nach mehreren Tagen keine höhere Futteraufnahme zeigte, wurde der Brei wieder weggelassen.

Tabelle 8 zeigt den durchschnittlichen Verzehr von Pellets pro Tier und Tag in g und in % des durchschnittlichen Körpergewichtes. Innerhalb der einzelnen Käfige gab es beträchtliche Unterschiede hinsichtlich der Menge der Futteraufnahme von 18 bis 32 g pro Tier und Tag. Bezogen auf das Körpergewicht traten Unterschiede von 4,7 bis 7,0 % auf.

3.2.2.4 Gewichtsentwicklung

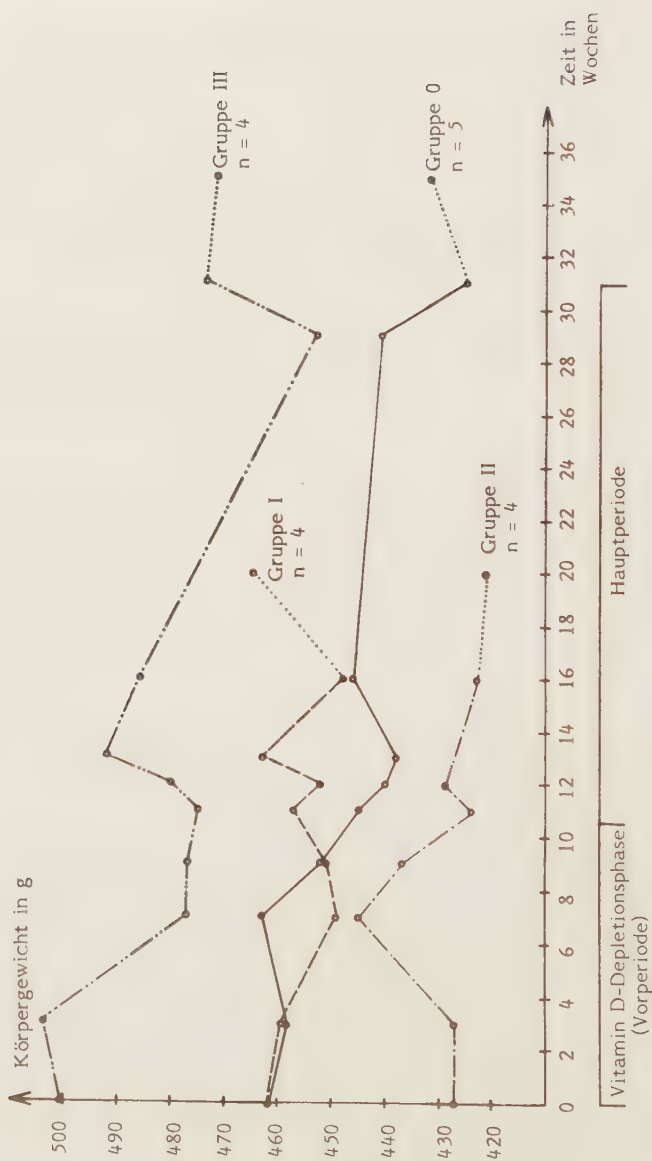
Die Körpergewichtsentwicklung der Versuchstiere in Gruppe 0 - III ist in prozentualer Abweichung vom Gewicht vor Versuchsbeginn in Tabelle 9 angegeben. Ein Zusammenhang zwischen Versuchsdauer und Größe des Gewichtsverlustes ist zu erkennen. Die Abbildung 9 zeigt die Gewichtsentwicklung der Gruppen 0 - III. Da in Gruppe II und III je ein Tier vorzeitig ausfiel, gehen diese Werte nicht in die graphische Darstellung ein, um den Kurvenverlauf nicht zu verfälschen. In Tabelle 9 sind diese Tiere jedoch berücksichtigt.

Tabelle 9: Gewichtsentwicklung in prozentualer Abweichung vom Gewicht vor Versuchsbeginn

Gruppe	Gewicht vor Versuchsbeginn in g Woche 0	Vorperiode % Abweichung Woche 9	Hauptperiode		4 Wochen nach Versuchsende
			Woche 16	Woche 31	
0 n=5	462	- 2,2	- 3,5	- 8,0	- 6,8
III n=5	483	- 5,1	- 3,2		
n=4	501	- 3,8	- 2,9	- 5,1	- 5,2
I n=4	462	- 1,8	- 1,4		+ 0,8
II n=5	437	- 1,1			
n=4	427	+ 2,5	- 0,7		- 1,2

n = Anzahl der Tiere

Abb. 9: Gewichtsentwicklung



Bezogen auf das Versuchsanfangsgewicht nahmen die Tiere der Gruppen I und II nach 16-wöchiger Versuchszeit im Durchschnitt 1,4 bzw. 0,7 % ab. Die Tiere in Gruppe 0 und III dagegen wiesen nach 31-wöchiger Versuchszeit einen durchschnittlichen Gewichtsverlust von 8,0 bzw. 5,1 % auf.

Vier Wochen nach Versuchsende erreichten die Versuchstiere der Gruppe I wieder das Ausgangsgewicht. Der anfänglichen Gewichtszunahme der Gruppe II folgte ein Abfall von durchschnittlich $445 \text{ g} \pm 11 \text{ g}$ auf $423 \pm 23 \text{ g}$. Insgesamt hatte die Gruppe II zu Versuchsende kaum abgenommen und zeigte auch nach 4-wöchiger Koloniefütterung keine bedeutende Gewichtsänderung. Nach Umstellung auf Koloniediät war in Gruppe III kein weiterer Gewichtsabfall und in Gruppe 0 eine geringe Gewichtszunahme von 1,6 % festzustellen.

3.2.2.5 Kotbeschaffenheit

Vor Beginn des Versuches war der Kot bei 18 Tieren mit Koloniediät weich geformt, homogen und von mittelbrauner Farbe. Ein Tier setzte einen dünnbreiigen, hellbraunen Kot ab.

Mit Umstellung auf die halbsynthetische Versuchsdiät wurde bei allen Tieren der Kot gelbbraun und körnig. Die Kotbeschaffenheit blieb bei sieben Versuchstieren, bis auf die oben genannten Veränderungen, den Versuch hindurch unbeeinflusst. Fünf Tiere zeigten nach der Umstellung dick- bis dünnbreiige Kotkonsistenz, die sich innerhalb von 10 Tagen normalisierte.

Bei sieben Tieren, die in allen Versuchsgruppen vertreten waren, nahm der Kot keine feste Form mehr an. Während des Versuchszeitraumes hatten diese Tiere im Durchschnitt etwa 70 % dünnbreiigen bis wäßrigen und etwa 30 % dickbreiigen Kotabsatz. Drei dieser

Tiere mit fast ausschließlich breiigem Kotabsatz verloren über 10 % des Körpergewichtes. Nach über 150 Tagen Versuchsdiät war bei einem Tier der Kot unabhängig von der Konsistenz schmierig und fettig überzogen. Dieses Tier verlor an Gewicht, zeigte guten Appetit, war munter und sein Fell wurde zusehends fettiger (siehe 3.2.2.6).

Ein Zusammenhang zwischen dem unterschiedlichen Vitamin D₃-Gehalt in den Diäten und der Kotbeschaffenheit war nicht festzustellen.

Nach Umstellung aller Gruppen auf Koloniefutter nahm der Kot bei 18 Tieren innerhalb von 10 Tagen die Beschaffenheit an, die er vor Versuchsbeginn hatte. Ein Tier behielt bei Koloniediät die dünnbreiige, wäßrige Kotbeschaffenheit bei und verlor weiter an Gewicht.

3.2.2.6 Allgemeinbefinden, Krankheits- und Todesfälle

Im Laufe des Versuches waren die Tiere munter und hatten guten Appetit. Vorübergehend traten bei mehr als der Hälfte der Versuchstiere Schnupfensymptome auf. Etwa 1 - 2 Wochen nach Verabreichung des Versuchsfutters wirkte bei einem Teil der Tiere das Haarkleid vorübergehend ungepflegt und fettig. Wegen der mehrmaligen Blutentnahmen im Versuch wurden zur Kontrolle die Gesamtleukozytenzahl, die Erythrozytenzahl, der Hämatokrit, der Hämoglobingehalt und das mittlere Erythrozytenvolumen ermittelt. Erwartungsgemäß nahmen im Verlauf des Versuches Hämatokrit, Hämoglobin und die Erythrozytenzahl durchschnittlich ab. Bedenkliche Bereiche wurden jedoch nicht erreicht. Bei einzelnen Versuchstieren war die Gesamtleukozytenzahl an der oberen Normgrenze.

Bei einem Tier der Gruppe II war die durch Diarrhoe angegriffene Haut um den Anusbereich, vor allem Perineum und Praeputium, ent-

zündlich infiltriert. Bei den bakteriologischen Untersuchungen des Kotes wurden *Pseudomonas aeruginosa* und *Campylobacter jejuni* nachgewiesen. Trotz symptomatischer Behandlung und Antibiotikaverabreichung änderte sich der Durchfall nicht, die Wunde besserte sich nur zögernd. Das Allgemeinbefinden, das Körpergewicht und die Futteraufnahme waren davon nicht beeinträchtigt.

In der Gruppe III fiel in der 15. Woche des Versuches ein Tier mit Schnupfen, Blässe, ungepflegtem, fettigem Haarkleid, Haarausfall und sehr fettig-pastösem, säuerlich riechendem Kot auf. Der Futterverzehr war ungewöhnlich hoch. Das Körpergewicht blieb bis zur 23. Woche konstant, nahm dann jedoch innerhalb von 6 Wochen um 15 % ab. Erst kurz vor dem Tod, in der 29. Woche des Versuches, war das Allgemeinbefinden reduziert. Histologisch-pathologische Befunde können den Tod des Tieres nicht erklären. Der Leberbefund spricht für eine geringe Stauung mit läppchenzentraler hypoxischer Verfettung. Femur und Sternum haben eine schmale lamelläre Kompakta und ein sehr zelldichtes, hämatopoetisches Mark.

In der 12. Woche starb, nachdem zuvor große Unruhe im Stall geherrscht hatte, ein Versuchstier der Gruppe II unter Schocksymptomen. Dünnbreiig bis wäßrig-grießeliger Kotabsatz, konstanter Gewichtsverlust und blasse Schleimhäute waren während des Versuches beobachtet worden. Das Verhalten und Allgemeinbefinden blieb bis zuletzt unauffällig. Bei der serologischen Untersuchung wurden eine Verschiebung des Albumin-Globulin-Verhältnisses zu Gunsten der Globuline und normale Leber- und Nierenparameter festgestellt.

3.2.3 Nachversuch

Die Auswertung dieser Versuchsergebnisse erfolgte an 27 von 30 Versuchstieren. Ein *Saguinus fuscicollis*-Weibchen war trächtig, ein weiteres Versuchstier wurde wegen schlechtem Allgemeinbefinden gemeinsam mit dem gesunden Partner vorzeitig aus dem Versuch herausgenommen.

Nach der vierwöchigen Versuchsperiode zeigten die einzelnen Tiere Gewichtsänderungen von + 16 % bis - 8 % des Körpergewichtes, bezogen auf das Versuchsanfangsgewicht. Die durchschnittliche Gewichtsänderung in Gruppe A (2.000 IE Vitamin D₃/kg Diät), in Gruppe B (4.000 IE Vitamin D₃/kg Diät) und in Gruppe C (8.000 IE Vitamin D₃/kg Diät) lag zwischen + 1 % und - 2 % des Körpergewichtes.

Die Versuchstiere verzehrten zwischen 20 g und 31 g Pellets pro Tier und Tag und auf das durchschnittliche Körpergewicht bezogen zwischen 4,1 % und 6,2 %. Ein Tier der Gruppe C zeigte einen ungewöhnlich hohen Verzehr von 41 g Pellets, was 10,3 % des Körpergewichtes entspricht.

Vor Beginn des Versuches war der Kot bei allen außer zwei Tieren weich und geformt, homogen und von mittelbrauner Farbe. Bei zwei Versuchstieren wechselte die Konsistenz zwischen dünnbreilig bis geformt. Nach der Umstellung auf die Versuchsdiäten nahm der Kot eine gelbliche Farbe an und war leicht körnig. Nach der Umstellung auf die halbsynthetische Diät hatten die Hälfte der Versuchstiere dünnbreiligen bis wäßrigen Kot, der sich nur teilweise nach etwa 10 Tagen normalisierte. Fünf Tiere hatten während des gesamten Versuches dünnbreilig bis wäßrigen, zum Teil grießeligen, zwei Tiere hatten fettig-pastösen Kot. Bei Koloniediät waren Farbe und Konsistenz des Kotes wie vor Versuchsbeginn.

Das Versuchstier in Gruppe C, das durch hohen Pelletverzehr aufgefallen war, zeigte schon nach fünf Versuchstagen sowohl ein fettiges Haarkleid und Haarausfall als auch einen fettigen, pastösen, säuerlich riechenden Kot in großer Menge. Dieser Zustand besserte sich in der 3. Versuchswoche. Am Ende des Versuches wies das Tier eine Gewichtszunahme, bezogen auf das Anfangsgewicht, von 15,7 % des Körpergewichtes, auf. In der Gruppe B mußte ein Pärchen aus dem Versuch genommen werden, nachdem sich das Allgemeinbefinden des Weibchens in der 2. bis 3. Versuchswoche verschlechtert hatte. Es hatte einen trüben, zum Teil glasigen Blick, eine gekrümmte Haltung, ungepflegtes, fettiges Haarkleid, Haarausfall, und der meist geformte Kot war pastös und roch säuerlich. Die Futteraufnahme war ungestört und das Körpergewicht blieb konstant. Eine Blutuntersuchung ergab eine Leukozytose, hypochrome Anämie und normale Leber- und Nierenparameter. Das Allgemeinbefinden der übrigen Versuchstiere war ungestört.

Zu Versuchsende wurde allen Tieren Blut entnommen. Die durchschnittlichen Serumwerte der Tiere in Gruppe A, B und C sind in der Tabelle 10 angegeben. Die Einzelwerte von Calcium, Phosphat, alkalischer Phosphatase, 25(OH)D und Parathormon sind dem Anhang zu entnehmen.

Der Kreatininwert im Serum lag bei allen Gruppen im Durchschnitt bei 0,7 mg/dl. Die einzelnen Werte reichen von 0,5 bis 0,8 mg/dl.

Die Serumcalciumgehalte der 3 Gruppen unterscheiden sich signifikant. Die hoch-Vitamin D₃- und nieder-Vitamin D₃-versorgten Tiere mit einem durchschnittlichen Calciumspiegel von $4,6 \pm 0,2$ bzw. $4,7 \pm 0,3$ mval/l weichen signifikant (Gruppe A: $p \leq 0,01$; Gruppe C: $\leq 0,001$) von der Gruppe mit 4.000 IE Vitamin D₃/kg Diät mit durchschnittlich $5,2 \pm 0,4$ mval/l ab.

Tabelle 10: Blutparameter nach 4-wöchiger Fütterung mit Diäten unterschiedlichen Vitamin D-Gehaltes

	Kreatinin	Ca	P _i	alkalische Phosphatase	25(OH)D	Parathormon
	mg/dl	mval/l	mg/dl	U/l	nmol/l	equl/l
Gruppe A 2.000 IE/kg Diät 9 Tiere	0,7 ± 0,1	4,6 ^a ± 0,2	8,6 ± 1,2	291 ± 271	54 ^{cd} ± 83	1.023 ± 828
Gruppe B 4.000 IE/kg Diät 8 Tiere	0,7 ± 0,1	5,2 ^{ab} ± 0,4	8,9 ± 2,0	207 ± 71	145 ^c ± 80	876 ± 874
Gruppe C 8.000 IE/kg Diät 10 Tiere	0,7 ± 0,1	4,7 ^b ± 0,3	8,3 ± 1,4	299 ± 219	351 ^d ± 285	1.086 ± 1.073

a = signifikanter Unterschied ($p \leq 0,001$)

b = signifikanter Unterschied ($p \leq 0,01$)

c = signifikanter Unterschied ($p \leq 0,01$)

d = signifikanter Unterschied ($p \leq 0,001$)

Die anorganischen Serumphosphatspiegel weisen keinen deutlichen Unterschied zwischen den Gruppen auf. Den höchsten durchschnittlichen anorganischen Phosphatgehalt zeigte die Gruppe B mit 8,9 mg/dl, den niedrigsten die Gruppe C mit 8,3 mg/dl. Die Extremwerte betrugen 5,9 und 11,3 mg/dl.

Die alkalische Phosphatase im Serum wies eine große Streuung unter den Gruppen mit Extremwerten von 98 und 992 U/l auf. Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen A, B und C, obwohl der Wert der Gruppe B mit 207 U/l unter dem der beiden anderen Gruppen mit 291 U/l und 299 U/l liegt.

Im Serum-25(OH)D-Gehalt treten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Die 25(OH)D-Serumwerte der Gruppe A lagen deutlich unter den Werten der Gruppe B ($p \leq 0,01$) und der Gruppe C ($p \leq 0,001$). In Gruppe A lag der 25(OH)D-Gehalt bei 4 von 9 Tieren unter der Nachweisgrenze, und 2 Tiere hatten Werte über 100 nmol/l. Die Vitamin D-Gehalte im Serum der Gruppen B und C unterscheiden sich wenig und reichten von 73 nmol/l bis 328 nmol/l bzw. von 50 nmol/l bis über 800 nmol/l.

Die individuellen Parathormongehalte streuten stark. Sie reichten von 192 equl/l bis 3.955 equl/l. Die durchschnittlichen Parathormonspiegel in den Gruppen A, B und C zeigen keine großen Unterschiede. Die niedrigste Parathormonkonzentration im Serum wies die Gruppe B mit 876 equl/l auf, während die Gruppen A und C einen Gehalt von 1.023 equl/l bzw. 1.086 equl/l hatten.

4. DISKUSSION

4.1 Vitamin D-Depletion

Die 75 Tage dauernde Vitamin D-Depletionsphase des Hauptversuches war durch einen signifikanten Abfall von 25(OH)D ($p \leq 0,001$) und Calcium ($p \leq 0,01$) sowie durch einen signifikanten Anstieg der Gehalte an Parathormon und alkalischer Phosphatase ($p \leq 0,001$) im Serum gekennzeichnet. Der Phosphatanstieg ($p \leq 0,05$) bis zur 7. Woche kann als Reaktion auf den erniedrigten Calciumspiegel angesehen werden. Durch überschießende Parathormonsekretion, von GELFERT (1979) als "booster effect" bezeichnet, wird Calcium und Phosphat aus dem Skelett mobilisiert, wobei die Ausscheidungskapazität der Niere für Phosphat überschritten wird.

Da die Tiere in der Kolonie keinen UV-Strahlen ausgesetzt sind, kann sich kein Vitamin D-Speicher in der Haut durch Eigensynthese gebildet haben, der nach POSKITT et al. (1979) zumindest beim Menschen beträchtlich ist. Das Serum-Vitamin D-Transportprotein besitzt, so folgerten BOUILLON und van BAELEN (1979), auch eine Speicherfunktion, um Mangelzeiten zu überbrücken. Der schnelle 25(OH)D-Abfall innerhalb von 3 Wochen bei *Saguinus fuscicollis* läßt, analog zu Ergebnissen von KASPAR (1983) bei *Callithrix jacchus*, eine geringe Vitamin D₃-Speicherkapazität vermuten. Das könnte mit einem hohen Energieumsatz bei diesen kleinen Tieren erklärt werden. Daraus ergibt sich um so mehr die Notwendigkeit einer kontinuierlichen Vitamin D₃-Zufuhr. Bei einzelnen Tieren war der 25(OH)D-Gehalt im Serum nach 3 Wochen nicht unter die Nachweisgrenze abgesunken (siehe Anhang: Tabelle 1 D). Eine Erklärung für die bei diesen Tieren nachweisbaren 25(OH)D-Gehalte könnte darin

liegen, daß vor Versuchsbeginn die Serum-25(OH)D-Konzentrationen von 40 -289 nmol/l streuten.

Eine Steigerung der Parathormonsekretion, durch erniedrigten Calciumspiegel ausgelöst, hat eine Calcium-Phosphor-Mobilisierung aus dem Knochen zur Folge. Dies wird noch untermauert durch eine Aktivitätssteigerung der alkalischen Phosphatase, die eine erhöhte Knochenumbaurate anzeigt. Der Calciumgehalt sank trotz des Parathormonanstiegs signifikant ab. Der niedrige Calciumspiegel erklärt sich einerseits aus der verminderten Vitamin D-abhängigen intestinalen Resorption und andererseits dadurch, daß Parathormon zur vollen Wirkung an Knochen und Darm die Anwesenheit von Vitamin D benötigt.

Bei den Vitamin D-depletierten Tieren der Gruppe 0 traten nach dem Ende der Vorperiode (75. Tag) bei fortgesetzter Depletion keine weiteren Änderungen der Calcium-, Phosphor- und 25(OH)D-Serumspiegel bis zum Versuchsende (215. Tag) auf. Die Parathormonkonzentration und die Konzentration der alkalischen Phosphatase nahmen aber in dieser Zeit weiter zu.

Charakteristische Symptome einer Vitamin D-Unterversorgung traten schon nach 75 Tagen Vitamin D-Depletion in Form von erniedrigten 25(OH)D- und Calciumgehalten auf.

Nach 215 Tagen war eine ossäre Manifestation eines sekundären, durch Vitamin D-Mangel verursachten Hyperparathyreodismus erkennbar, ausgedrückt im erhöhten Serumgehalt von Parathormon und alkalischer Phosphatase. Bei keinem Tier waren Zeichen eines Knochenschmerzes, z.B. Bewegungsunlust, festzustellen.

Röntgenologisch konnte zwar kein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe, die 215 Tage lang Vitamin D-frei ernährt wurde und der Gruppe, die 1.800 IE Vitamin D₃/kg Diät erhielt, festge-

stellt werden, aber die Begutachter konnten Unterschiede im Mineralisierungsgrad erkennen.

Da nach MÜNZENBERG und KARZEL (1983) eine vermehrte Strahlentransparenz erst bei einem Mineralverlust von mindestens 30 % bemerkbar ist, scheint bei 3 - 4 Tieren der Gruppe 0 und bei einem Tier der Gruppe III eine erheblich gestörte Mineralisierung des Skelettes vorzuliegen. Ein verminderter Mineralgehalt des Versuchstieres, das 1.800 IE Vitamin D₃/kg Diät erhielt, könnte mit verminderter Calcium-, Phosphor- oder Vitamin D-Resorption, bedingt durch Diarrhoe, erklärt werden.

Es muß eingeräumt werden, daß die angefertigten Röntgenaufnahmen nur Hinweise auf Knochenveränderungen im Sinne einer Osteomalazie liefern, jedoch keine gesicherte Diagnose zulassen. Dazu wären empfindlichere, aber auch aufwendigere Methoden notwendig, oder es müßten zur Objektivierung der Ergebnisse vergleichende Röntgenstudien über das Krallenaffenskelett vorliegen. Da bei KASPAR (1983) trotz Vitamin D-Mangel und extremer Calcium-Phosphorverhältnisse bei *Callithrix jacchus* keine Knochenveränderungen festgestellt wurden, hatten diese Röntgenaufnahmen lediglich Kontrollfunktion.

4.2 Vergleich der Serumparameter bei unterschiedlicher Vitamin D₃-Zufuhr

Durch die Zufuhr einer halbsynthetischen Diät mit entweder 300 IE, 900 IE oder 1.800 IE Vitamin D₃/kg konnte keine Normalisierung der Serumparameter, v. a. von 25(OH)D, alkalischer Phosphatase und Parathormon, erreicht werden.

Nach Vitamin D₃-Zufuhr fielen die durchschnittlichen Werte von 25(OH)D in den Gruppen I bis III trotz anfänglichen Anstiegs wieder ab. Obwohl in einer Gruppe 1.800 IE Vitamin D₃/kg Futter über 18 Wochen lang verabreicht wurden, lag der durchschnittliche 25(OH)D-Gehalt im Serum unter der Nachweisgrenze von 30 nmol/l. Zu Versuchsbeginn mit 2.000 IE Vitamin D₃/kg Futter betrug er 141 nmol/l. Eine zu geringe Vitamin D₃-Zugabe bei der Futterherstellung scheidet als Erklärung für diese wider Erwarten niedrigen 25(OH)D-Gehalte aus, da 3 Tage nach der Vitamin D₃-Zufuhr 25(OH)D-Werte über der Nachweisgrenze aufgetreten waren, die anschließend wieder abfielen. Die Ursache scheint eher in einer gestörten Resorption der halbsynthetischen Diäten zu liegen. Je länger sie zugeführt werden, um so stärker bemerkbar macht sich die Störung (siehe 4.4). Da die exakten 25(OH)D-Serumkonzentrationen unter 30 nmol/l nicht mehr ermittelt werden können, eignet sich die 25(OH)D-Bestimmung nicht zur Interpretation von Vitamin D-Studien in unteren Bedarfsbereichen.

Zwischen der Höhe der Zufuhr von Vitamin D₃ nach der Depletionsphase und der Dauer bis zum Erreichen eines Parathormonplateaus scheint eine Beziehung zu bestehen. Bei den Tieren mit der "1.800 IE Vitamin D₃"-Diät stagnierte der vorher angestiegene Parathormongehalt nach 3 Tagen, bei den Tieren mit der "900 IE"-Diät nach

10 Tagen und bei jenen mit einer "300 IE"-Diät nach 17 Tagen ab der Vitamin D₃-Zufuhr.

Auch bei der alkalischen Phosphatase scheint eine Beziehung zwischen Vitamin D₃-Gehalt im Futter und Dauer des Anstiegs der alkalischen Phosphatase-Aktivität im Serum zu bestehen. In der Gruppe I war die höchste alkalische Phosphatase-Aktivität nach 10 Tagen, in den Gruppen II und III nach 3 Tagen ab der unterschiedlichen Vitamin D₃-Gabe erreicht. Die alkalische Phosphatase scheint in diesem Falle etwa eine Woche früher als das Parathormon zu reagieren.

Die dargestellten Beziehungen zwischen der Zufuhr von Vitamin D₃ und den Serumparametern Parathormon und alkalische Phosphatase können jedoch nicht belegt werden. Innerhalb von 17 Tagen nach der Umstellung waren nämlich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen. Dies kann mit der geringen Tierzahl und der großen Streuung der beiden Serumparameter erklärt werden.

Die Calciumgehalte lagen bei allen Gruppen zu jeder Zeit des Versuches in den in der Literatur angegebenen Normalbereichen (siehe 2.6). Die variierenden Calcium- und Phosphatgehalte der Gruppe I (300 IE Vitamin D₃/kg Diät) können als Zeichen einer gestörten Homöostase angesehen werden. Dies läßt sich folgendermaßen erklären: als Reaktion auf den durch erhöhten Parathormongehalt erfolgten Calciumanstieg wird weniger Parathormon ausgeschüttet. Da auf Grund der niedrigen Vitamin D₃-Zufuhr zu wenig Calcium aus der Nahrung resorbiert wird, sinkt der Serumcalciumspiegel wieder ab, und Parathormon steigt reaktiv. Die kompensatorische Fähigkeit des Organismus, trotz teilweise erheblicher Abweichungen im Vitamin D₃-Angebot in der Nahrung, den Calciumspiegel nicht in einen bedenklich niedrigen Bereich absinken zu lassen, wird deutlich.

In der Literatur werden anorganische Phosphatkonzentrationen im Serum von Krallenaffen von 3,7 und 5,5 mg/dl angegeben (siehe 2.6). Im Vor-, Haupt- und Nachversuch wichen die erhaltenen durchschnittlichen anorganischen Phosphatwerte ganz erheblich davon ab und lagen in der Regel im Bereich von durchschnittlich 7,9 bis 8,9 mg/dl, jedoch mit Einzelwerten zwischen 1,8 und 14,5 mg/dl. Diese Streuung kann mit einem individuell unterschiedlichen Futterverzehr der Versuchstiere zum Zeitpunkt der Blutentnahme erklärt werden, da die Höhe der Serumphosphatwerte von der Nahrungsaufnahme beeinflusst wird. Auch eine durch gelegentliche Hämolyse der Seren verfälschte Phosphorbestimmung kann für die Streuung der Werte eine Rolle gespielt haben. Die geringe Tierzahl, vor allem in der Hauptperiode des Hauptversuches, kann auf Grund der oben genannten Ausführungen zu Fehlinterpretationen führen. Somit ist der Serumphosphatspiegel in den Versuchen nur bedingt aussagekräftig.

Die Serumparamester der Gruppe III hatten zu Versuchsende die Versuchsanfangswerte nicht erreicht (bei 2.000 IE Vitamin D₃/kg Koloniediät). Dies war um so auffälliger, da nach 18-wöchiger Verabreichung von 1.800 IE Vitamin D₃ vergleichbare Blutparameter zu erwarten gewesen wären. Die zu Versuchsende nicht nachweisbaren 25(OH)D-Spiegel, die höheren Parathormon- und niedrigeren Calcium- und Phosphatspiegel untermauern die Annahme, daß das Vitamin D₃ der halbsynthetischen Diät schlechter resorbiert wird.

Die Erhöhung des Vitamin D₃-Gehaltes von 300 IE und 900 IE auf 1.000 IE/kg Koloniefutter hatte bei beiden Gruppen einen Anstieg des 25(OH)D-Spiegels und eine Abnahme des Parathormon- und des alkalischen Phosphatasespiegels im Serum zur Folge. Die Versuchsanfangswerte wurden aber nicht erreicht.

Die Umstellung der Gruppe 0 auf 1.000 IE Vitamin D₃/kg Futter war mit einer Abnahme der Aktivität der alkalischen Phosphatase und

mit einem Anstieg des Calciumgehaltes verbunden. Als Ursache dafür, daß die Serum-25(OH)D-Konzentration der Gruppe 0 weiterhin unter der Nachweisgrenze lag und nicht, wie erwartet, anstieg, ist die relativ kurze Fütterungsdauer von 4 Wochen anzusehen. Aus dem geringen 25(OH)D-Gehalt läßt sich der gleichbleibend hohe Parathormonspiegel erklären.

Durch Verminderung der Vitamin D₃-Zufuhr von 1.800 IE auf 1.000 IE/kg Futter nahm der zuvor schon niedrige 25(OH)D-Gehalt weiter ab. Durch kompensatorisch verstärkte Parathormonsekretion stieg der Calciumspiegel bei unveränderter Aktivität der alkalischen Phosphatase an.

4.3 Abgrenzung der Normalbereiche Vitamin D-abhängiger

Blutparameter

Um Aufschluß über einen bedarfsdeckenden Vitamin D₃-Gehalt von Krallenthiern zu erhalten, werden die Blutparameter gegenübergestellt, die sich bei unterschiedlicher Vitamin D₃-Fütterung ergeben haben. Es wird vor allem auf die folgenden Fragen eingegangen:

- Auf welche Höhe stellt sich der Vitamin D-Spiegel im Serum, in Abhängigkeit vom Vitamin D-Gehalt des Futters, ein?
- Wie weit lassen sich die im Vergleich zum Menschen überhöhten Parathormonwerte durch hohen Vitamin D-Gehalt in der Nahrung senken?

- Welches ist der physiologische Bereich für die Aktivität der alkalischen Phosphatase und für Parathormon im Serum, und welcher Vitamin D-Gehalt in der Nahrung ist dazu notwendig?

Die 25(OH)D-Serumkonzentration des Menschen liegt im Bereich von 50 - 300 nmol/l (HORN, 1984). Bei 1.000 IE Vitamin D₃/kg Futter (siehe 3.2.1) lagen die erhaltenen 25(OH)D-Spiegel bei den Tieren der Spezies *Saguinus fuscicollis*, *S. labiatus* und *S. mystax* in dem Bereich, den auch KASPAR (1983) bei *Callithrix jacchus* mit gleicher Fütterung erhielt. Im Vorversuch traten mehrmals 25(OH)D-Gehalte unter der Nachweisgrenze von 30 nmol/l auf, aber auch hohe 25(OH)D-Werte bis 231 nmol/l waren zu verzeichnen. Die große Streuung der Vitamin D-Konzentrationen im Serum ist auch bei KASPAR (1983) erwähnt und wird auf eine ungleichmäßige Verteilung des Vitamin D₃-Präparates (2 mg auf 1.000 g Futter) im Futter zurückgeführt. Da bei einer verhältnismäßig großen Anzahl von Tieren 25(OH)D im Serum nicht nachgewiesen werden konnte, scheint ein Vitamin D₃-Gehalt von 1.000 IE/kg Futter nicht für alle Krallenaffen auszureichen.

Die Erhöhung des Vitamin D₃-Gehaltes von 1.000 IE auf 2.000 IE/kg Koloniefutter bewirkte einen leichten 25(OH)D-, Calcium- und Phosphatanstieg im Serum und eine Abnahme des Parathormonspiegels und der Aktivität der alkalischen Phosphatase. Nach dieser Vitamin D₃-Erhöhung in der Diät verminderte sich die Anzahl der Versuchstiere mit nicht nachweisbarem 25(OH)D-Spiegel von 6 auf 2.

Vor Beginn des Hauptversuches war der 25(OH)D-Spiegel bei allen Tieren über der Nachweisgrenze. Die durchschnittliche 25(OH)D-Serumkonzentration lag bei längerer Verabreichung von 2.000 IE Vitamin D₃/kg Koloniediät mit 139 ± 56 nmol/l höher als nach der 4-wöchigen Erhöhung auf 2.000 IE im Vorversuch.

Im Nachversuch wurde zur Herstellung der halbsynthetischen Diät ein Vitamin D-Präparat mit geringerer Konzentration verwendet, um

eine gleichmäßigere Verteilung im Futter zu erreichen. Nach Erhöhung des Vitamin D_3 -Gehaltes von 1.000 IE auf 2.000 IE in der "semi-purified diet" im Nachversuch traten durchschnittlich geringere 25(OH)D-Serumkonzentrationen auf als im Vorversuch mit der jeweils gleichen Vitamin D_3 -Konzentration in einer "natural ingredient diet" (siehe 3.2.1 und 3.2.3).

Der 25(OH)D-Gehalt im Serum der Tiere, die 4.000 IE Vitamin D_3 /kg Diät erhielten, entsprach in etwa den Werten bei Fütterung von 2.000 IE Vitamin D_3 /kg Koloniefutter. Erst bei Verabreichung von 8.000 IE Vitamin D_3 /kg "semi purified diet" ist ein deutlicher Unterschied zu den Werten zu verzeichnen, die in vorherigen Versuchen ermittelt wurden. Zweimal wurde die obere Nachweisgrenze von 800 nmol/l überschritten. Shinki et al. (1983) dagegen erhielten bei einer täglichen Vitamin D_3 -Zufuhr von ca. 300 IE pro *Callithrix jacchus*, nur einen maximalen 25(OH)D-Gehalt im Serum von umgerechnet ca. 510 nmol/l (competitive protein binding assay).

Die unterschiedlichen 25(OH)D-Gehalte der Tiere bei Verabreichung von 2.000 IE Vitamin D_3 /kg Koloniefutter bzw. halbsynthetischer Diät können auf einer geringeren Vitamin D-Resorption in der halbsynthetischen Diät basieren (siehe 4.4). Dies bedeutet, daß vermutlich auch in der "4.000 IE"- und "8.000 IE"-Diät durchschnittlich weniger Vitamin D_3 resorbiert worden ist. Die Übereinstimmung der erhaltenen Serumwerte bei Verabreichung von 4.000 IE Vitamin D_3 /kg halbsynthetischer Diät und von 2.000 IE Vitamin D_3 /kg "natural ingredient diet" ist somit verständlicher. Die großen Streuungen beruhen wohl auf individuellen Unterschieden in der Resorption. Bezüglich des 25(OH)D-Gehaltes im Serum scheint somit ein Koloniefutter mit 2.000 IE Vitamin D_3 /kg Futter für erwachsene Tiere auszureichen.

Bei 1.000 IE Vitamin D_3 /kg Futter wurde ein durchschnittlicher Serumparathormongehalt von etwa 1.200 equl/l ermittelt. Bei Erhö-

hung von Vitamin D₃ im Futter auf 2.000 IE/kg sank er unter 900 equl/l. Die Einzelwerte bei einer 2.000 IE Vitamin D₃-Konzentration in den Diäten im Vor- und Hauptversuch lagen im Bereich unter 2.000 equl/l. Bei den Kontrolltieren in Versuchen von KASPAR (1983) traten Parathormonwerte im gleichen Bereich auf. Mit hohen Vitamin D₃-Gaben von 4.000 IE und 8.000 IE war kein weiterer Abfall des durchschnittlichen Parathormonspiegels zu verzeichnen, jedoch fielen Einzelwerte bis in den für den Menschen geltenden Normalbereich ab.

Ein Parathormongehalt zwischen 800 und 1.000 equl/l im Serum von *Saguinus fuscicollis* kann als physiologisch angesehen werden, wobei Streuungen von 200 bis 2.000 equl/l durchaus toleriert werden können. Die Parathormonwerte der Spezies *S. labiatus* und *S. mystax* lagen in vergleichbaren Bereichen, sie beruhen aber auf einer geringen Tieranzahl.

Um eine renal bedingte Erhöhung des Parathormonspiegels auszuschließen, wurden im Vor- und Nachversuch die Kreatininspiegel ermittelt, die sich jedoch innerhalb des in der Literatur angegebenen Normalbereiches bewegten (siehe 2.6).

Im Gegensatz zu dem für den Menschen geltenden Normalbereich der Aktivität der **alkalischen Phosphatase** im Serum von 60 - 190 U/l, liegen die in der Literatur angegebenen Normalwerte für *Callithrix jacchus* bei 392 U/l, für männliche *Saguinus labiatus* bei 674 U/l und weibliche bei 519 U/l (siehe 3.6).

Bei Fütterung von 1.000 IE Vitamin D₃/kg Futter war eine durchschnittliche alkalische Phosphatase-Aktivität an der oberen, für den Menschen angegebenen Normgrenze zu verzeichnen, wobei zwischen *Saguinus labiatus* und *S. fuscicollis* kein Unterschied festgestellt wurde. Bei Verabreichung von 2.000 IE Vitamin D₃/kg "natural ingredient diet" im Vor- und Hauptversuch wurde bei *Saguinus fuscicollis* eine durchschnittliche Aktivität der alkalischen Serum-Phos-

phatase von 135 U/l und 188 U/l ermittelt. Im Nachversuch mit derselben Vitamin D₃-Konzentration in einer halbsynthetischen Diät wies die alkalische Phosphatase mit 291 U/l im Serum eine bedeutend höhere durchschnittliche Aktivität auf. Dies spricht, verbunden mit dem niedrigeren Serum-25(OH)D-Spiegel, für eine schon erwähnte geringere Vitamin D-Resorption.

Nach Erhöhung der Vitamin D₃-Konzentration im Futter bei *Saguinus labiatus* verhielten sich im Gegensatz zur alkalischen Phosphatase die Serumparameter 25(OH)D und Parathormon wie erwartet. Die Erhöhung des durchschnittlichen Wertes der alkalischen Phosphatase-Aktivität könnte der individuellen Streuung der Werte bei der relativ geringen Tierzahl zugeschrieben werden.

Bei Verabreichung eines "4.000 IE"-Futters zeigt die alkalische Phosphatase eine durchschnittliche Aktivität von ca. 200 U/l, während bei Gabe von 8000 IE Vitamin D₃/kg Futter der Wert bei etwa 300 U/l liegt. Im Vergleich zum "2.000 IE"- und "8.000 IE" Futter scheint das "4.000 IE" Futter die günstigere Vitamin D₃-Konzentration zu enthalten. Dafür sprechen die "ausreichenden" 25(OH)D-Gehalte, die durchschnittlich niedrigeren alkalischen Phosphatase- und Parathormonspiegel sowie die signifikant höheren Calciumkonzentrationen.

Es zeichnet sich ab, daß die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum von *S. fuscicollis* durchschnittlich nicht weiter als bis auf 135 ± 56 U/l abfällt. Dies ist bereits der Fall bei einer Koloniediät mit 2.000 IE Vitamin D₃/kg. Eine Streuung von 70 - 350 U/l kann bei der alkalischen Serumphosphatase noch als normal gelten. Sie deckt sich in etwa mit den von BRUHIN (1979) für *Callithrix jacchus* und ESCAJADILLO et al. (1981) für *Saguinus oedipus* angegebenen Normalbereichen. Zur Ermittlung eines Normalbereiches der alkalischen Phosphatase für *S. labiatus* und *S. mystax* liegen zu wenig Werte vor. Die von WADSWORTH (1982) für *S. labiatus* erhaltenen durchschnittlichen alkalischen Phosphatase-Aktivitäten von 674

und 519 U/l können als überhöht angesehen werden, da die im Vorversuch ermittelten Durchschnittswerte zwischen 200 - 300 U/l lagen.

4.4 Besondere Beobachtungen an Versuchstieren

Im Haupt- und Nachversuch hatten bis zu 40 % der Tiere die gesamte Dauer hindurch dünnbreiigen bis wäßrigen Kot. In den Proteinbedarfsstudien mit halbsynthetischen Diäten von SCHOEN (1982) war nur kurzfristig nach der Umstellung auf die halbsynthetische Diät Diarrhoe beobachtet worden.

Bei 3 Tieren war im Haupt- und Nachversuch ein fettig-pastöser, säuerlich riechender Kot im Sinne einer Steatorrhoe aufgefallen. Gleichzeitig zeigten diese Tiere einen außergewöhnlich hohen Pelletverzehr ohne Gewichtszunahme, hatten fettiges Haarkleid und machten einen anämischen Eindruck. Das Auftreten eines pastösen Kotes bei *Callithrix jacchus* wurde von SAPPL (1984) beobachtet, während es bei Verwendung des halbsynthetischen Diättyps in Studien von KASPAR (1983) und SCHOEN (1982) nicht beschrieben wurde.

Die oben genannten Symptome könnten durch Belastungen oder durch Verdauungsstörungen hervorgerufen worden sein. Die Tiere waren u.a. durch Unruhe in den Ställen und versuchsbedingt häufiges Herausfangen höheren Belastungen ausgesetzt. Die halbsynthetische Diät kann zu Verdauungsstörungen geführt haben. Der Grund könnte einerseits in der relativ hohen Fett- und Kohlehydratkonzentration

liegen. Andererseits wäre es denkbar, daß die einzelnen Futterkomponenten nicht in einem ausgewogenen Verhältnis zueinander stehen. Eine quantitativ oder qualitativ verminderte Aufnahme von Nahrungsbestandteilen kann zu verschiedenen, schwer zu unterscheidenden Mangelkrankungen führen. Hier sei besonders auf verminderte Resorption von Eiweiß und fettlöslichen Vitaminen hingewiesen.

Für die Annahme einer verminderten Resorptionsfähigkeit bei den halbsynthetischen Diäten spricht, daß die Serum-25(OH)D-Werte der Tiere bei diesem Diättyp niedriger waren als bei dem "natural ingredient" Koloniefutter, trotz gleich hoher Vitamin D₃-Beimischung.

Für weitere ernährungsphysiologische Studien ist diese halbsynthetische Diät in dieser Zusammensetzung nicht zu empfehlen, zumindest für Tiere der Spezies *Saguinus fuscicollis*. Eine ausreichende Resorption der Nahrungsbestandteile ist, auf Grund der wahrscheinlich diätbedingten Neigung zu Diarrhoe und Steatorrhoe, nicht garantiert. Dies kann somit zu Fehlinterpretationen führen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden Untersuchungen zum Vitamin D-Bedarf erwachsener Kralenaffen der Spezies *Saguinus fuscicollis* durchgeführt. Die Ernährung der Versuchstiere erfolgte ausschließlich mit einer "halbsynthetischen" Diät mit ausgewogener Calcium- und Phosphorzufuhr ($\text{Ca} \approx 0,6\%$; $\text{P} \approx 0,6\%$).

Nach ausreichender Vitamin D_3 -Versorgung über eine Koloniediät folgte eine 75 Tage dauernde Vitamin D-Depletionsperiode, danach wurden 4 Gruppen mit Konzentrationen von 0, 300 IE, 900 IE und 1.800 IE Vitamin D_3 /kg Diät versorgt.

In einem Nachversuch wurden anderen Tieren der Spezies *Saguinus fuscicollis* 2.000 IE, 4.000 IE und 8.000 IE Vitamin D_3 /kg Diät angeboten.

Während der Depletionsphase fielen die Calcium- und $25(\text{OH})\text{D}$ -Konzentrationen im Serum signifikant ab. Die $25(\text{OH})\text{D}$ -Werte lagen bereits nach 3 Wochen bei 13 von 19 Tieren unter der Nachweisgrenze. Alkalische Phosphatase und Parathormon erhöhten sich signifikant.

Alle 3 Vitamin D_3 -Konzentrationen führten bereits 3 Tage nach der ersten Verabreichung zu einem Anstieg der durchschnittlichen $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumkonzentration. Die durchschnittliche Konzentration von Parathormon und alkalischer Phosphatase im Serum wiesen 3 bis 17 Tage nach der Vitamin D_3 -Zufuhr keinen weiteren Anstieg auf. Gegen Versuchsende waren bei den weiterhin Vitamin D-depletierten Tieren signifikant höhere alkalische Phosphatase- und Parathormonspiegel zu verzeichnen als bei den Tieren, die 1.800 IE Vitamin

D₃/kg Diät erhielten. Röntgenaufnahmen nach 215-tägiger Vitamin D-Depletion gaben Hinweise auf osteomalazische Veränderungen.

Die Auswertung aller Blutparameter zur Ermittlung eines Normalbereiches ergab:

- der 25(OH)D-Gehalt im Serum lag im Bereich des für den Menschen angegebenen Normalbereiches von 50 - 300 nmol/l bei 2.000 IE Vitamin D₃/kg Diät
- der durchschnittliche Serumparathormongehalt ließ sich auch bei höheren Vitamin D-Gaben nicht weiter als auf 800 - 1.000 equl/l senken
- die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum lag im Bereich von 70 - 350 U/l.

Die Gesamtheit der Versuche läßt folgende Schlußfolgerungen zu:

- eine Vitamin D₃-Konzentration von 2.000 IE/kg Diät scheint dem tatsächlichen Bedarf zu entsprechen
- eine aus der Depletionsphase ersichtliche, geringe Vitamin D-Speicherkapazität, verbunden mit der fehlenden UV-Exposition, macht eine kontinuierliche Vitamin D-Versorgung über die Nahrung notwendig
- die mehrmals angewandte halbsynthetische Diät könnte zu einer individuell unterschiedlichen, schlechteren Resorption von Vitamin D geführt haben.

S U M M A R Y

STUDIES ON THE VITAMIN D REQUIREMENT OF TAMARINS AND ESTIMATION OF VITAMIN D DEPENDENT BLOOD PARAMETERS

The vitamin D requirement of adult tamarins of the species *Saguinus fuscicollis* was investigated. The animals were fed exclusively on a "semi-purified" diet with a balanced quantity of calcium and phosphorus ($\text{Ca} \approx 0,06 \%$; $\text{P} \approx 0,6 \%$).

A period of sufficient vitamin D_3 supply through a colony diet was followed by a 75 days' vitamin D depletion period. Afterwards 4 groups were fed concentrations of 0, 300 IU, 900 IU and 1.800 IU vitamin D_3 /kg diet.

In a subsequent test other animals of the species *Saguinus fuscicollis* were fed on a diet of 2.000 IU, 4.000 IU and 8.000 IU vitamin D_3 /kg.

In the depletion period the calcium and 25(OH)D concentrations decreased significantly. After 3 weeks the 25(OH)D levels of 13 out of 19 animals were no longer detectable. The alkaline phosphatase and parathyroid hormone concentrations increased significantly.

Three days after the first supply, all three vitamin D_3 concentrations led to an increase in the average 25(OH)D serum level. The average concentration of parathyroid hormone and alkaline phosphatase in the serum did not show any further increase 3 - 17 days after vitamin D_3 supply. Towards the end of the test the alkaline phosphatase and parathyroid hormone levels were significantly higher in the animals with continued vitamin D depletion than in

those animals fed on 1.800 IU vitamin D₃/kg diet. X-ray examination after vitamin D depletion of 215 days showed signs of osteomalacie.

The evaluation of all blood parameters to determine a normal range resulted in the following:

- the 25(OH)D level in the serum was within the normal range as defined for human beings, i.e. between 50 and 300 nmol/l, with a diet of 2.000 IU vitamin D₃/kg
- even with higher doses of vitamin D, the average serum parathyroid hormone level could not be reduced below 800 - 1.000 equl/l
- the activity of the alkaline phosphatase in the serum was within a range of 70 - 350 U/l.

The total of the tests justifies the following conclusions:

- a vitamin D₃ concentration of 2.000 IU/kg diet seems to correspond to the actual requirements
- a low vitamin D storing capacity noticed during the depletion period, together with the lack of exposure to ultraviolet rays, calls for a continuous supply of vitamin D with the food
- the "semi-purified" diet used several times may have led to a lower and individually differing resorption rate of vitamin D.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. AARSKOG, D. and L. AKSNES, 1980
Acute response of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D
to parathyroid hormone
Lancet 1, 362 - 363
2. AUSMAN, L.M. and K.C. HAYES, 1974
Vitamine E deficiency anemia in Old
and New World monkeys
Am. J. Clin. Nutr. 27, 1141 - 1151
3. BAKER, M.J.M. and R.T. HERBERT, 1972
Diseases of the skeleton
in: *Pathology of Simian Primates*
(Ed.: R.N.T.-W. Fiennes) Part. I, Karger, Basel, 433 - 519
4. BATCHELOR, A.J. and J.E. COMPSTON, 1983
Reduced plasma half-life of radiolabelled 25(OH)D₃
in subjects receiving a high-fibre diet
Br. J. Nutr. 49, 213 - 216
5. BELSEY, R.E., H.F. DeLUCA, and J.T. POTTS, jr., 1974
Selective binding properties of vitamin D
transport protein in chick plasma in vitro
Nature 247, 208 - 209
6. BLUM, J.W., G.P. MAYER, and J.T. POTTS, jr., 1974
Parathyroid hormone responses during spontaneous
hypocalcemia and induced hypercalcemia in cows
Endocrinology 95, 84 - 92
7. BHALLA, A.K., E.P. AMENTO, T.L. CLEMENS,
M.F. HOLICK, and S.M. KRANE, 1983
Specific high-affinity receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D₃
in human peripheral blood mononuclear cells: presence
in monocytes and induction in T lymphocytes following activation
J. Clin. Endocrinol. Metab. 57, 1308 - 1310

8. BORDIER, P., A. RYCKWAERT, P., MARIE, L. MIRAVET, A. NORMAN, and H. RASMUSSEN, 1977
Vitamin D metabolites and bone mineralization in man
in: Vit D Biochemical, Chemical and Clinical Aspects Related to Ca Metabolism, Proceedings of the third workshop on Vitamin D (Eds.: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, D. Fraser, H.G. Grigoleit, D.v. Herrath), Walter de Gruyter, Berlin, New York, 897 - 911
9. BORDIER, P., H. RASMUSSEN, P. MARIE, L. MIRAVET, J. GUERIS, and A. RYCKWAERT, 1978
Vitamin D metabolites and bone mineralization in man
J. Clin. Endocrinol. Metab. 46, 284 - 294
10. BOUILLON, R. and H. van BAELEN, 1979
The transport of vitamin D
in: Vitamin D, Basic Research and its Clinical Application (Eds.: Norman, A.W., K. Schaefer, D.v. Herrath, H.G. Grigoleit, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, E.B. Maurer, T. Suda), Walter de Gruyter, Berlin, New York, 137 - 143
11. BRASS, W., H. SCHEBITZ und K. DÄMMRICH, 1975
Skelett
in: Allgemeine Chirurgie für Tierärzte und Studierende (Eds.: H. Schebitz u. W. Brass) Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 468 - 489
12. BROMMAGE, R., K. JARNAGIN, H.F. DeLUCA, S. YAMADA, and H. TAKAYAMA, 1983
1-but not 24-hydroxylation of vitamin D is required for skeletal mineralization in rats
Am. J. Physiol. 244, E 298 - E 304
13. BRUHIN, H., 1979
Callithrix jacchus, Marmoset.
Ein neues Versuchsmodell
Z. Versuchstierk. 21, 209 - 221
14. BRUNETTE, M.G., M. CHAN, C. FERRIERE, and K.D. ROBERTS, 1978
Site of 1,25-hydroxyvitamin D₃ synthesis in the kidney
Nature 276, 287 - 289
15. BULLOCK, B.C. and J.A. BOWEN, 1966
Rickets and osteomalacia in Squirrel monkeys (Saimiri sciureus)
Fed. Proc. 25, p. 533

16. CANTERBURY, J.M., G. GAVELLAS, J.J. BOURGOIGNIE, and E. REISS, 1979
In vivo suppression of parathyroid hormone (PTH) secretion by 24,25 dihydroxycholecalciferol ($24,25(\text{HO})_2\text{D}_3$) in hyperparathyroid dogs
in: Vitamin D, Basic Research and its Clinical Application (Eds.: A.W. Norman, K. Schaefer, D.v. Herrath, H.G. Grigoleit, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, E.B. Mawer, T. Suda), Walter de Gruyter, Berlin, New York, 297 - 304
17. CARE, A.D., D.W. PICKARD, M. PEACOCK, B. MAWER, C.M. TAYLOR, J. REDEL, A.W. NORMAN, 1977
Reduction of parathyroid hormone secretion by 24,25-dihydroxycholecalciferol (24,25-DHCC)
in: Vit D Biochemical, Chemical and Clinical Aspects Related to Ca Metabolism, Proceedings of the third workshop on Vitamin D (Eds.: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, D. Fraser, H.G. Grigoleit, D.v. Herrath), Walter de Gruyter, Berlin, New York, 102 - 107
18. CHEN, T.C., L. CASTILLO, M. KORYCKA-DAHL, and H.F. DeLUCA, 1974
Role of vitamin D metabolites in phosphate transport of rat intestine
J. Nutr. 104, 1.056 - 1.060
19. CHERTOW, B.S., D.J. BAYLINK, J.E. WERGEDAL, M.H.H. Su, and A.W. NORMAN, 1975
Decrease in serum immunoreactive parathyroid hormone in rats and in parathyroid hormone secretion in vitro by 1,25 dihydroxycholecalciferol
J. Clin. Invest. 56, 668 - 678
20. CHERTOW, B.S., W.I. SIVITZ, N.G. BARANETSKY, S.A. CLARK, A. WAITE, and H. F. DeLUCA, 1983
Cellular mechanisms of insulin release: the effects of vitamin D deficiency and repletion on rat insulin secretion
Endocrinology 113, 1.511 - 1.518
21. CHRISTAKOS, S., M.G. BRUNETTE, and A.W. NORMAN, 1981
Localization of immunoreactive vitamin D-dependent calcium binding protein in chick nephron
Endocrinology 109, 322 - 324

22. **CHRISTAKOS, S., and A.W. NORMAN, 1981**
Studies on the mode of action of calciferol.
XXIX. biochemical characterization of 1,25-dihydroxyvitamin
D₃ receptors in chick pancreas and kidney cytosol
Endocrinology 108, 140 - 149
23. **CLARKE, H.E., M.E. COATES, J.K. EVA, D.J. FORD,
C.K. MILNER, P.N. O'DONOGHUE, P.P. SCOTT, and
R.J. WARD, 1977**
Dietary standards for laboratory animals: report of the
Laboratory Animals Centre Diets Advisory Committee
Lab. Animals 11, 1 - 28
24. **CLEMENS, T.L., S.L. HENDERSON, J.S. ADAMS,
and M.F. HOLICK, 1982**
Increased skin pigment reduced the capacity of skin
to synthesize vitamin D₃
Lancet 1, 74 - 76
25. **CLEMENTS, M.R., T.M. CHALMERS,
and D.R. FRASER, 1984**
Enterohepatic circulation of vitamin D:
a reappraisal of the hypothesis
Lancet 1, 1.376 - 1.379
26. **COMPSTON, J.E. and B. CREAMER, 1977**
Plasma levels and intestinal absorption of 25-hydroxyvitamin
D₃ in patients with small bowel resection
Gut 18, 171 - 175
27. **DÄMMRICH, K., 1967 a**
Erkrankungen des Skeletts bei jungen Affen
Kleintierpraxis 12, 156 - 162
28. **DÄMMRICH, K., 1967 b**
Rachitis und Osteodystrophia fibrosa generalisata
Zbl. Vet. Med. A 14, 597 - 627
29. **DÄMMRICH, K., 1970**
Zur formalen Pathogenese der Systemerkrankungen
des Skeletts bei Tieren
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 83, 106 - 112
30. **DAVY, C.W., M.R. JACKSON, and J. WALKER, 1984**
Reference intervals for some clinical chemical parameters
in the marmoset (*Callithrix jacchus*): effect of age and sex
Lab. Animals 18, 135 - 142

31. DEINHARDT, J.B., J. DEVINE, M. PASSOVOY, R. POHLMAN,
and F. DEINHARDT, 1967
Marmosets as laboratory animals.
I. Care of marmosets in the laboratory, pathology and
outline of statistical evaluation of data
Lab. Animal Care 17, 11 - 29
32. DEKEL, S., R. SALAMA, and S. EDELSTEIN, 1983
The effect of vitamin D and its metabolites
on fracture repair in chicks
Clinical Science 65, 429 - 436
33. DeLUCA, H.F., 1974
Vitamin D: the vitamin and the hormone
Fed. Proc. 33, 2.211 - 2.219
34. DeLUCA, H.F., 1979
Recent advances in our understanding of the
vitamin D endocrine system
J. Steroid Biochem. 11, 35 - 52
35. DIRKSEN, G., M. WOLF, U. GEBERT
und F.J. KAEMMERER, 1981
Trisetum flavescens: Hinweis auf eine
wasserlösliche Wirksubstanz
Zbl. Vet. Med. A 28, 429 - 435
36. DREIZEN, S., B.M. LEVY, S. BERNICK, J.K. HAMPTON, jr.,
and L. KRAINTZ, 1967
Studies on the biology of the periodontium of marmosets.
III. Periodontal bone changes in marmosets with
osteomalacia and hyperparathyroidism
Israel J. Med. Sci. 3, 731 - 738
37. DREIZEN, S., B.M. LEVY, and S. BERNICK, 1973
Diet-induced arteriosclerosis in the marmoset
Proc. Soc. exper. Biol. Med. 143, 1.218 - 1.223
38. DUELAND, S., J.I. PEDERSEN, P. HELGERUD,
and C.A. DREVON, 1982
Transport of vitamin D₃ from rat intestine
J. Biol. Chem. 257, 146 - 150
39. EDELSTEIN, S., 1974
Vitamin D binding proteins
Vitamins Horm. 32, 407 - 428

40. EPPLE, G., 1967
Vergleichende Untersuchungen über Sexual- und Sozialverhalten der Krallenaffen (Hapalidae)
Folia primat. 7, 37 - 65
41. ESCAJADILLO, A., R.T. BRONSON, P. SEHGAL, and K.C. HAYES, 1981
Nutritional evaluation in cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*)
Lab. Anim. Sci. 31, 161 - 165
42. FELDMAN, D., T. CHEN, M. HIRST, K. COLSTON, M. KARASEK, and C. CONE, 1980
Demonstration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in human skin biopsies
J. Clin. Endocrinol. Metab. 51, 1.463 - 1.465
43. FELDMAN, S.C. and S. CHRISTAKOS, 1983
Vitamin D-dependent calcium-binding protein in rat brain: biochemical and immunocytochemical characterization
Endocrinology 112, 290 - 302
44. FISCHER, J.A., U. BINSWANGER, A. FANCONI, R. ILLIG, K. BAERLOCHER, and A. PRADER, 1973
Serum parathyroid hormone concentrations in vitamin D deficiency rickets of infancy: effects of intravenous calcium and vitamin D
Horm. Metab. Res. 5, 381 - 385
45. FLURER, C., R. SCHEID, and H. ZUCKER, 1983
Evaluation of a pelleted diet in a colony of marmosets and tamarins
Lab. Animal Sci. 33, 264 - 267
46. FRASER, D.R., 1980
Regulation of the metabolism of vitamin D
Physiol. Rev. 60, 551 - 613
47. FRASER, D.R., 1983
The physiological economy of vitamin D
Lancet 1, 969 - 972
48. FREEDMAN, M.T., M. BUSH, G.R. NOVAK, R.M. HELLER, jr., and A.E. JAMES, jr., 1976
Nutritional and metabolic bone disease in a zoological population
Skeletal Radiol. 1, 87 - 96

49. FREYSCHMIDT, J., 1980
Knochenerkrankungen im Erwachsenenalter
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
50. GARBER, P., 1980
Locomotor behavior and feeding ecology of the
Panamanian tamarin
(*Saguinus oedipus geoffroyi*, Callitrichidae, Primates)
Int. J. Primatol. 1, 185 - 201
51. GARBER, P., 1984
Proposed nutritional importance of plant exudates in the
diet of the Panamanian tamarin, *Saguinus oedipus geoffroyi*
Int. J. Primatol. 5, 1 - 15
52. GARCIA, F.G., 1976
Primate husbandry and reproduction
in: First Inter-American Conference in Conversation and
Utilization of American Nonhuman Primates in Biomedical
Research, Lima, 1975; Pan American Health Organization
Scientific Publication 317, 51 - 64
53. GELFERT, U., 1979
Vitamin D-Bestimmung mittels diätetisch
induzierter akuter Hypophosphatämie
Vet. med. Diss., München
54. GROTH, W., 1962
Experimentelle Untersuchungen über Calcium- und Phosphat-
Mangel-Osteopathien und ihre Beziehung zur Epithelkörperchen-
funktion und zum Mineralstoffgehalt des Blutes bei
wachsenden Hühnern
Zbl. Vet. Med. 9, 1.009 - 1.040
55. HAMERTON, A.E., 1934
Report on deaths occurring in the Society's Gardens
during the year 1933
Proc. Zool. Soc. 1934, 389 - 422
56. HAMPTON, J.K., jr., S.H. HAMPTON,
and B.T. LANDWEHR, 1966
Observations on a successful breeding colony of the
marmoset, *Oedipomidas oedipus*
Folia primat. 4, 265 - 287

57. HARRISON, J.E., A.J.W. HITCHMAN, G.B. GORDON,
and S.A. HASANY, 1977
The effect of vitamin D activity on rat renal and
intestinal calcium binding proteins
in: Vit D Biochemical, Chemical and Clinical Aspects
Related to Ca Metabolism, Proceedings of the third
workshop on Vitamin D
(Eds.: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca,
D. Fraser, H.G. Grigoleit, D.v. Herrath), Walter de Gruyter,
Berlin, New York, 253 - 255
58. HAUSSLER, M.R., 1974
Vitamin D: mode of action and biomedical applications
Nutr. Rev. 32, 257 - 266
59. HAY, A.W.M. and G. WATSON, 1975
Binding of 25-hydroxyvitamin D₂ to plasma
protein in New World monkeys
Nature 256, p. 150
60. HEIDBREDER, E., 1978
Parathormon. Funktion und Interaktion im
Calciumstoffwechsel
Med. Klin. 73, 1.091 - 1.097
61. HERSHKOVITZ, P., 1977
Living New World monkeys, Vol. I
University of Chicago Press
62. HIDDELSTONE, W.A., 1975
Large scale production of a small laboratory primate:
Callithrix jacchus
in: The Laboratory Animal in the Study of Reproduction
6th Symp. Thessaloniki, 1975
(Eds.: T. Antikatzides, S. Erichsen and A. Spiegel)
Fischer Verlag, Stuttgart, 51 - 57
63. HOBBS, K.R., G. CLOUGH, and J. BLEBY, 1977
The establishment of specified-pathogen-free
marmosets, Callithrix jacchus
Lab. Animals 11, 29 - 34
64. HOLMES, A.W., M. PASSOVOY, and R.B. CAPPS, 1967
Marmosets as laboratory animals
III. Blood chemistry of laboratory - kept marmosets
with particular attention to liver function and structure
Lab. Animal Care 17, 41 - 47

65. **HORN, K.**, 1984
Normwerte der Medizinischen Klinik Innenstadt
der Universität München
66. **HUNT, R.D., F.G. GARCIA, and D.M. HEGSTED**, 1966
Vitamin D requirement of New World primates
Fed. Proc. 25, p. 545
67. **HUNT, R.D. and F.G. GARCIA**, 1967
Vitamin D₂ and D₃ in New World primates:
influence on calcium absorption
Science 157, 943 - 946
68. **HUNT, R.D., F.G. GARCIA, and D.M. HEGSTED**, 1967
A comparison of vitamin D₂ and D₃ in
New World primates
I. Production and regression of osteodystrophia fibrosa
Lab. Animal Care 17, 222 - 234
69. **HUNT, R.D., F.G. GARCIA, and D.M. HEGSTEDT**, 1969
Hypervitaminosis D in New World monkeys
Amer. J. Clin. Nutr. 22, 358 - 366
70. **IMRIE, M.H., P.F. NEVILLE, A.W. SNELLGROVE,**
and **H.F. DeLUCA**, 1967
Metabolism of vitamin D₂ and vitamin D₃
in the rachitic chick
Arch. Biochem. Biophys. 120, 525 - 532
71. **JANDE, S.S. and I.R. DICKSON**, 1980
Comparative histological study of the effects of high
calcium diet and vitamin D supplements on epiphyseal
plates of vitamin D-deficient chicks
Acta anat. 108, 463 - 468
72. **JEFFREE, G.M.**, 1962
Phosphatase activity in the limb bones of monkeys
(*Lagothrix humboldti*) with hyperparathyroidism
J. clin. Path. 15, 99 - 111
73. **KADOWAKI, S. and A.W. NORMAN**, 1984
Pancreatic vitamin D-dependent calcium binding protein:
biochemical properties and response to vitamin D
Arch. Biochem. Biophys. 233, 228 - 236

74. **KASPAR, B.**, 1983
Extreme Calcium : Phosphor Verhältnisse in der Diät
bei *Callithrix jacchus*: Eine Studie zum Calcium-,
Phosphor- und Vitamin D-Bedarf
Vet. Med. Diss., München
75. **KAUMANN, W.**, 1982
Verhaltensbeobachtungen an Schnurrbarttamarinen
(*Saguinus m. mystax*)
Zeitschrift des Kölner Zoo 4, 107 - 117
76. **KERR, G.R.**, 1972
Nutritional requirements of subhuman primates
Physiol. Rev. 53(2), 415 - 467
77. **KING, G.J.**, 1975
Feeding and nutrition of the Callithricidae
at the Yersey Zoological Park
12th annual report. Extract from the Yersey Wildlife
Preservation Trust, 81 - 90
78. **KING, G.J.**, 1976
An investigation into "wasting marmoset syndrome"
at Yersey Zoo
13th annual report. Extract from the Yersey
Wildlife Preservation Trust, 97 - 107
79. **KING, G.J.**, 1978
Comparative feeding and nutrition in
captive, nonhuman primates
Brit. J. Nutr. 40, 55 - 62
80. **KINGSTON, W.R.**, 1969
Marmosets and tamarins
Lab. Anim. Handb. 4, 243 - 250
81. **KORKOR, A.B.**, M. **ARRIEH**, and J. **KUCHIBHOTLA**, 1983
Glucocorticoids increase intestinal $1,25-(OH)_2$
vitamin D_3 receptor concentrations in the dog
Clin. Res. 31, p. 583 A
82. **KOWARSKI, S.** and D. **SCHACHTER**, 1969
Effects of vitamin D on phosphate transport and incorporation
into mucosal constituents of rat intestinal mucosa
J. Biol. Chem. 244, 211 - 217

83. **KROKOWSKI, E.** und **M. FRICKE**, 1978
Die Entstehung der Osteoporose.
Eine neue Konzeption
Med. Welt 29, 1.483 - 1.490
84. **KROOK, L.** and **R.B. BARRETT**, 1962
Simian bone disease - A secondary hyperparathyroidism
Cornell Vet. 52, 459 - 492
85. **KRUSE, K., H. BARTELS**, and **U. KRACHT**, 1984
Parathyroid function in different stages of vitamin D
deficiency rickets
Eur. J. Pediatr. 141, 158 - 162
86. **KUMAR, R.**, 1984
Metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D₃
Physiol. Rev. 64, 478 - 504
87. **LAWSON, E., R. SPENCER, M. CHARMAN**,
and **P. WILSON**, 1977
Recent studies on 1,25-(OH)₂D₃ action in the intestine
in: Vit D Biochemical, Chemical and Clinical Aspects
Related to Ca Metabolism, Proceedings of the third
workshop on Vitamin D
(Eds.: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca,
D. Fraser, H.G. Grigoleit, D.v. Herrath) Walter de Gruyter,
Berlin, New York, 265 - 275
88. **LEHNER, N.D.M., B.C. BULLOCK, T.B. CLARKSON**,
and **H.B. LOFLAND**, 1967
Biological activities of vitamins D₂ and D₃
for growing squirrel monkeys
Lab. Animal Care 17, 483 - 493
89. **MacINTYRE, I.**, 1977
Comparative aspects of the biochemistry of the
regulation of vitamin D metabolism
in: Vit D Biochemical, Chemical and Clinical Aspects
Related to Ca Metabolism, Proceedings of the third
workshop on Vitamin D
(Eds.: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca,
D. Fraser, H.G. Grigoleit, D.v. Herrath), Walter de Gruyter,
Berlin, New York, 155 - 164
90. **MALLUCHE, H.H., H. HENRY, W. MEYER-SABELLEK**,
D.SHERMAN, S.G. MASSRY, and **A.W. NORMAN**, 1981
Effects and interactions of 24R,25(OH)₂D₃
and 1,25(OH)₂D₃ on bone
Am. J. Physiol. 238, E 494 - E 498

91. **MALLUCHE, H.H., M. AKMAL, E. MAYER, A. NORMAN, S.G. MASSRY, and R.M. FRIEDLER, 1983**
1,25(OH)₂ vitamin D increases bone formation and mineralization in uremic dogs. An effect dependent upon presence of parathyroid hormone
Clin. Res. 31, p. 435 A
92. **MARSCHNER, I., F. SPELSBERG, W.G. WOOD und P.C. SCRIBA, 1981**
Diagnostik und Therapie des Hyperparathyreoidismus
Der Arzt im Krankenhaus 34,
Teil 1, 619 - 628 a
Teil 2, 690 - 696
Teil 3, 757 - 765
93. **MARTIN, D.P., 1978**
Primates
in: Zoo and Wild Animal Medicine (Ed.: M.E. Fowler),
W.B. Saunders u. Co., Philadelphia, PA, 524 - 552
94. **MÜNZENBERG, K.J. und K. KARZEL, 1983**
Die Natriumfluorid-Therapie der Osteoporose
Verlag für Medizin, Fischer, Heidelberg
95. **NAPIER, J.R. and P.H. NAPIER, 1967**
A Handbook of Living Primates
Academic Press, New York
96. **NAPOLI, J.L., B.C. PRAMANIK, P.M. ROYAL, T.A. REINHART, and R.L. HORST, 1983**
Intestinal synthesis of 24-keto-1,25-dihydroxyvitamin D₃.
A metabolite with high affinity for the vitamin D cytosolic receptor
J. Biol. Chem. 258, 9.100 - 9.107
97. **NEWBERNE, P.M. and K.C. HAYES, 1979**
Semipurified diets for nonhuman primates
in: Primates in Nutritional Research (Ed.: Hayes, K.C.)
Academic Press, 99 - 119
98. **NORMAN, A.W., E.J. FRIEDLANDER, and H.L. HENRY, 1981**
Studies on the mode of action of calciferol XXXI.
Determination of the rates of synthesis and degradation of vitamin D-dependent chick intestinal and renal calcium-binding proteins
Arch. Biochem. Biophys. 206, 305 - 317

99. **NORMAN, A.W., J. ROTH, and L. ORCI, 1982**
The vitamin D-endocrine system: steroid metabolism,
hormone receptors, and biological response
(calcium binding proteins)
Endocrine Reviews 3, 331 - 366
100. **OLDHAM, S.B., C.D. ARNAUD, and J. JOWSEY, 1973**
Influence of vitamin D on canine parathyroid glands (PTG's)
Clin. Res. 21, p. 254
101. **ORNOY, A., D. GOODWIN, D. NOFF, and
S. EDELSTEIN, 1978**
24,25-Dihydroxyvitamin D is a metabolite of
vitamin D essential for bone formation
Nature 276, 517 - 519
102. **PANSU, D., C. BELLATON, C. ROCHE,
and F. BRONNER, 1983**
Duodenal and ileal calcium absorption in the rat
and effects of vitamin D
Am. J. Physiol. 244, G 695 - G 700
103. **POBISCH, R., 1978**
Röntgenbefunde bei Rachitis und ihre Abgrenzung
gegenüber denen des alimentären Hyperparathyreoidismus
Wien. tierärztl. Mschr. 65, 179 - 182
104. **POSKITT, E.M.E., T.J. COLE, and D.E.M. LAWSON, 1979**
Diet, sunlight, and 25-hydroxyvitamin D in
healthy children and adults
Brit. med. J. 1, p. 221
105. **RAMBECK, W.A. und H. ZUCKER, 1982**
Vitamin D-artige Aktivitäten in calcinogenen Pflanzen
Zbl. Vet. Med. A 29, 289 - 296
106. **RESNICK, S., 1971**
Bone disease in pet monkeys
J. amer. vet. med. Ass. 159, 557 - 559
107. **ROTH, J., S. BONNER-WEIR, A.W. NORMAN,
and L. ORCI, 1982**
Immunocytochemistry of vitamin D-dependent calcium
binding protein in chick pancreas: exclusive
localization in B-cells
Endocrinology 110, 2.216 - 2.218

108. **SAPPL, A.**, 1984
Proteinbedarfsermittlung bei erwachsenen Krallenaffen durch den N-Bilanzversuch
Vet. Med. Diss., München
109. **SCHOEN, R.**, 1982
Proteinbedarfsstudie an zwei Krallenaffenspezies mit einer halbsynthetischen Diät
Vet. Med. Diss., München
110. **SHERWOOD, L.M.**, G.P. **MAYER**, C.F. **RAMBERG**, jr., D.S. **KRONFELD**, G.D. **AURBACH**, and J.T. **Potts**, jr., 1968
Regulation of parathyroid hormone secretion: proportional control by calcium, lack of effect of phosphate
Endocrinology 83, 1.043 - 1.051
111. **SHINKI, T.**, Y. **SHIINA**, N. **TAKAHASHI**, Y. **TANIOKA**, H. **KOIZUMI**, and T. **SUDA**, 1983
Extremely high circulating levels of $1\alpha, 25$ -dihydroxy-vitamin D_3 in the marmoset, a New World monkey
Biochem. Biophys. Research Communications 114, 452 - 457
112. **SILVER, J.** and E. **BERRY**, 1982
Vitamin D uptake by perfused rat liver is determined by its transport protein
Mineral Electrolyte Metab. 7, 298 - 304
113. **SMILEY, J.**, 1980
Hypervitaminosis D_3 in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*)
Laboratory Primate Newsletter 19, 1 - 2
114. **SPANOS E.**, D. **BARRETT**, I. **MacINTYRE**, J.W. **PIKE**, E.F. **SAFILIAN**, and M.R. **HAUSSLER**, 1978
Effect of growth hormone on vitamin D metabolism
Nature 273, 246 - 247
115. **STARE, F.J.**, S.B. **ANDRUS**, and O.W. **PORTMAN**, 1963
Primate in medical research with special references to New World monkeys
(Proceeding of a Conference on Research with Primates) in: Research with Primates (Ed.: Pickering, D.E.)
Tektronix Foundation, Beaverton, Oregon, 59 - 66

116. STEELE, T.H., J.E. ENGLE, Y. TANAKA, R.S. LORENE,
K.L. DUDGEON, and H.F. DeLUCA, 1975
Phosphatemic action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃
Am. J. Physiol. 229, 489 - 495
117. STEENBOCK, H. and S.W.F. KLETZIEN, 1932
The reaction of the chicken to irradiated ergosterol and
irradiated yeast as contrasted with the natural vitamin D
of fish liver oils
J. Biol. Chem. 97, 249 - 264
118. SUTTON, R.A.L., C.A. HARRIS; N.L.M. WONG,
and J.H. DIRKS, 1977
Effects of vitamin D on renal tubular calcium transport.
in: Vit D Biochemical, Chemical and Clinical Aspects
Related to Ca Metabolism, Proceedings of the third
workshop on Vitamin D
(Eds.: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca,
D. Fraser, H.G. Grigoleit, D.v. Herrath), Walter de Gruyter,
Berlin, New York, 451 - 453
119. THORINGTON, R.W., 1970
Feeding behaviour of nonhuman primates in the wild
in: Feeding and Nutrition of Nonhuman Primates
(Ed.: R.S. Harris)
Academic Press, New York, London, 15 - 27
120. WADSWORTH, P.F., W.A. HIDDELSTON, D.V. JONES,
J.S.L. FOWLER, and R.A. FERGUSON, 1982
Haematological, coagulation and blood chemistry data
in red-bellied tamarins *Saguinus labiatus*
Lab. Animals 16, 327 - 330
121. WASSERMAN, R.H. and A.N. TAYLOR, 1963
Vitamin D₃ inhibition of radio-calcium binding by
chick intestinal homogenates
Nature 198, 30 - 32
122. WASSERMAN, R.H. and A.N. TAYLOR, 1971
Evidence for a vitamin D₃ induced calcium-
binding protein in New World primates
Proc. Soc. exper. Biol. Med. 136, 25 - 28
123. WASSERMAN, R.H. und A.N. Taylor, 1974
Die physiologische Bedeutung des Vitamin D-abhängigen
calciumbindenden Proteins
Triangel 12, 119 - 127

124. **WASSERMAN, R.H., R.A. CORRADINO, L. KROOK, M.R. HUGHES, and M.R. HAUSSLER, 1976**
Studies on $1\alpha,25$ -dihydroxycholecalciferol-like activity in a calcinogenic plant, *Cestrum diurnum*, in the chick
J. Nutr. 106, 457 - 465
125. **WASSERMAN, R.H. and C.S. FULLMER, 1983**
Calcium transport, proteins, calcium absorption, and vitamin D
Ann Rev. Physiol. 45, 375 - 390
126. **WENDT, H., 1968**
Springtamarins und Krallenäffchen
in: Grzimeks Tierleben 10, Kindler Verlag, Zürich, 348 - 378
127. **WHITE, C., 1922**
Osteomalacia
Arch. intern. Med. 30, 620 - 628
128. **WIEDEMANN, J., H. SCHMIDT-GAYK, V. PIETSCH und E. MAYER, 1982**
Rationelle Sättigungsanalyse zur Bestimmung des Vitamin D-Status (25-hydroxylierte Vitamin D-Metaboliten) aus kleinen Serumengen
Lab. Med. 6, 220 - 224
129. **WIRTH, H., W. BUSELMAIER und V. SKRDLIK, 1979**
Entwicklung einer standardisierten Alleindiät für Marmosetten und experimentelle Erfahrungen mit Marmosetten
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 92, 72 - 75
130. **WIRTH, H. und W. BUSELMAIER, 1982**
Long-term experiments with a newly-developed standardized diet for the New World primates *Callithrix jacchus jacchus* and *Callithrix jacchus penicillata* (marmosets)
Lab. Animals 16, 175 - 181
131. **WOOD, W.G., R. BUTZ, M. CASARETTO, R. HEHRMANN, H. JÜPPNER, I. MARSCHNER, H. ZAHN, and R.D. HESCH, 1980**
Preliminary results on the use of an antiserum to human parathyrin in a homologous radioimmunoassay
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 18, 789 - 795

132. **WORKER**, N.A. and B.J. **CARRILLO**, 1967
"Enteque seco", calcification and wasting
in grazing animals in the Argentine
Nature 215, 72 - 74
133. **YONEDA**, T. and G.R. **MUNDY**, 1979
Monocytes regulate osteoclast-activating factor
production by releasing prostaglandins
J. Exp. Med. 150, 338 - 350
134. **ZUCKER**, H., O. **KREUTZBERG**,
and W.A. **RAMBECK**, 1977
Vitamin D-like action of a steroid from
Trisetum flavescens
in: Vit D Biochemical, Chemical and Clinical Aspects
Related to Ca Metabolism, Proceedings of the third
workshop on Vitamin D
(Eds.: A.W. Norman, K. Schäfer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca,
D. Fraser, H.G. Grigoleit, D.v. Herrath), Walter de Gruyter,
Berlin, New York, 85 - 87

Anhang: Tabelle 1 A:

Ca-Werte im Serum (mval/l) von Gruppe 0-III (Hauptversuch)

Gruppe	Woche Tiere	K. 1		Diät 0		Diät I bzw. II, III, 0				K. 2
		0	3	7	9	11	12	13	16/29	20/35
I	1	4,9	4,6	4,8	5,3	4,7	5,2	4,9	5,5	5,2
	2	5,2	5,5	4,7	4,8	4,3	5,1	4,0	5,0	4,5
	3	4,8	4,7	4,4	4,2	4,9	4,4	4,1	4,6	4,2
	4	4,7	5,0	4,6	4,8	4,6	4,8	4,3	4,6	4,7
II	5	5,0	4,9	4,2	4,2	4,1	3,9	-	-	-
	6	4,7	4,6	4,3	4,2	4,7	4,7	4,4	4,0	4,0
	7	4,9	4,0	4,1	4,8	3,9	4,1	3,8	3,4	4,2
	8	4,7	3,7	4,9	4,0	4,6	4,8	4,4	3,8	3,8
	9	4,8	4,5	4,6	4,3	4,6	4,5	4,4	4,6	4,7
III	10	5,4	4,5	5,0	5,0	4,6	4,9	4,3	3,9	4,9
	11	5,3	4,0	4,7	4,3	4,5	4,9	4,1	4,2	4,8
	12	4,5	4,0	4,0	5,0	4,7	4,5	4,2	4,1	4,4
	13	4,7	4,0	4,2	4,1	3,8	4,1	4,1	4,6	3,7
	14	4,7	3,7	4,3	4,1	3,0	2,5	2,5	3,0	-
0	15	5,4	4,5	5,0	4,6	4,7	4,4	4,5	4,2	5,1
	16	5,5	5,4	4,4	4,8	4,2	4,5	4,0	-	4,5
	17	4,6	4,7	5,0	4,7	4,5	4,8	4,8	4,3	4,5
	18	4,6	4,6	4,3	4,3	4,3	4,7	5,0	4,5	5,0
	19	4,6	4,3	4,4	4,3	4,1	4,5	4,6	4,5	4,2

K. 1 = Koloniediät 2.000 IE Vitamin D₃/kg

K. 2 = Koloniediät 1.000 IE Vitamin D₃/kg

Anhang: Tabelle 1 B:

P-Werte im Serum (mg/dl) von Gruppe 0-III (Hauptversuch)

Gruppe	Woche Tiere	K. 1		Diät 0		Diät I bzw. II, III, 0				K. 2
		0	3	7	9	11	12	13	16/29	20/35
I	1	10,5	9,2	9,3	8,6	8,7	10,3	8,4	11,7	7,8
	2	6,9	13,0	7,8	6,1	8,3	7,7	5,6	12,0	5,1
	3	5,8	8,2	7,6	6,8	7,9	8,1	6,9	9,1	5,8
	4	12,9	8,0	8,3	9,7	7,6	8,6	7,1	9,3	3,7
II	5	11,4	9,5	11,6	7,5	8,4	9,6	-	-	-
	6	7,0	10,5	8,7	8,2	7,6	7,3	7,4	6,0	4,5
	7	8,3	7,7	9,9	8,3	8,8	9,8	9,0	9,1	3,9
	8	7,3	9,2	10,6	10,5	8,4	7,9	6,5	6,4	1,8
	9	5,2	6,0	5,1	5,0	6,7	7,0	7,3	7,8	4,5
III	10	12,0	8,7	11,2	10,6	11,9	13,4	8,3	7,3	6,5
	11	8,0	8,8	7,8	9,1	11,9	9,4	9,3	5,1	11,1
	12	7,5	9,7	10,4	9,7	9,6	9,2	8,9	3,4	5,5
	13	7,0	8,2	7,7	8,6	9,9	8,4	9,1	7,6	5,3
	14	7,2	7,4	9,2	12,8	8,0	10,3	10,4	-	-
0	15	8,3	8,2	9,9	9,9	10,0	9,7	8,3	8,5	7,9
	16	6,9	8,4	8,9	7,0	8,0	9,0	6,7	-	6,5
	17	5,0	6,9	5,7	6,2	7,7	8,8	6,9	6,7	6,2
	18	5,5	7,6	11,7	7,6	7,7	7,3	7,1	8,5	6,8
	19	8,3	9,1	7,0	6,0	8,7	6,9	5,4	5,5	4,2

K. 1 = Koloniediät 2.000 IE Vitamin D₃/kg

K. 2 = Koloniediät 1.000 IE Vitamin D₃/kg

Anhang: Tabelle 1 C:

Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum (U/l)
von Gruppe 0-III (Hauptversuch)

Gruppe	Woche Tiere	K. 1		Diät 0		Diät I bzw. II, III, 0				K. 2
		0	3	7	9	11	12	13	16/29	20/35
I	1	226	217	351	370	410	461	448	466	249
	2	183	304	269	246	316	377	369	307	231
	3	164	154	149	183	346	315	405	423	190
	4	256	364	417	491	563	569	581	583	336
II	5	184	252	417	333	313	242	-	-	-
	6	303	479	765	777	737	699	797	586	441
	7	248	269	598	856	1.432	1.150	894	908	714
	8	182	241	269	268	359	527	479	371	171
	9	186	203	275	216	282	314	264	318	223
III	10	212	315	117	218	419	320	282	312	416
	11	140	235	267	228	266	288	253	176	78
	12	167	184	271	300	341	338	285	204	156
	13	125	142	264	254	350	394	280	264	131
	14	105	99	306	188	354	167	132	186	-
0	15	181	330	698	589	575	516	574	650	425
	16	152	311	458	438	541	529	532	-	520
	17	185	271	270	307	266	290	248	383	308
	18	184	295	381	367	413	336	411	582	251
	19	195	188	378	611	477	453	440	990	478

K. 1 = Koloniediät 2.000 IE Vitamin D₃/kg

K. 2 = Koloniediät 1.000 IE Vitamin D₃/kg

Anhang: Tabelle I D:

25(OH)D im Serum (nmol/l) von Gruppe 0-III (Hauptversuch)

Gruppe	Woche Tiere	K. 1		Diät 0		Diät I bzw. II, III, 0				K. 2
		0	3	7	9	11	12	13	16/29	20/35
I	1	201	21	68	31	78	58	42	<30	54
	2	186	29	77	17	62	46	40	32	48
	3	286	43	<30	19	<30	65	38	<30	68
	4	130	50	50	13	47	38	48	<30	54
II	5	99	<20	<30	20	32	32	-	-	-
	6	146	21	<30	17	<30	31	<30	<30	<30
	7	40	<20	<30	17	<30	38	<30	<30	66
	8	100	<20	<30	11	<30	32	40	<30	54
	9	135	<20	<30	15	33	<30	39	<30	76
III	10	146	39	<30	39	<30	41	54	31	37
	11	148	24	31	34	34	136	96	52	31
	12	150	<20	<30	32	39	51	53	<30	<30
	13	180	36	<30	<10	55	<30	36	64	<30
	14	96	<20	34	12	36	<30	<30	<30	-
0	15	115	32	<30	35	31	39	<30	<30	<30
	16	93	<20	<30	<10	<30	<30	<30	<30	35
	17	212	71	69	47	52	43	37	42	<30
	18	93	26	<30	12	54	<30	<30	<30	<30
	19	92	<20	39	27	38	45	<30	38	<30

K. 1 = Koloniediät 2.000 IE Vitamin D₃/kg

K. 2 = Koloniediät 1.000 IE Vitamin D₃/kg

Anhang: Tabelle 1 E:

Parathormon im Serum (equl/l) von Gruppe 0-III (Hauptversuch)

Gruppe Woche Tiere		K. 1		Diät 0		Diät I bzw. II, III, 0				K. 2
		0	3	7	9	11	12	13	16/29	20/35
I	1	678	1.190	1.287	5.705	>9.999	>9.999	>9.999	7.200	1.260
	2	526	694	1.176	944	1.866	1.749	2.080	3.054	732
	3	607	921	1.573	1.889	1.241	2.643	3.747	5.812	1.188
	4	2.183	725	1.564	1.894	2.194	1.660	2.116	1.892	613
II	5	2.210	4.279	6.638	7.470	3.617	8.224	-	-	-
	6	1.285	8.840	5.681	5.672	9.912	7.149	>9.999	8.597	6.827
	7	790	980	2.474	2.555	-	4.973	3.087	5.727	2.577
	8	637	1.056	1.498	2.320	1.843	1.500	1.403	1.663	1.681
	9	384	646	567	438	796	545	848	1.281	424
III	10	1.415	2.609	1.140	3.744	2.750	1.768	2.748	3.567	4.078
	11	880	1.255	1.415	1.659	2.420	1.235	2.147	1.422	4.480
	12	546	273	1.041	1.504	1.034	1.151	1.237	829	1.970
	13	704	717	1.237	2.841	1.950	2.189	3.050	1.538	5.525
	14	662	1.031	2.700	2.983	3.749	5.383	5.833	4.802	-
0	15	424	798	1.777	2.605	2.675	2.600	2.941	>9.999	>9.999
	16	467	773	1.171	1.415	1.235	1.284	1.423	5.116	5.689
	17	599	885	1.745	3.026	1.672	2.039	1.663	3.647	6.049
	18	490	1.096	1.742	1.280	1.625	1.687	1.486	3.647	6.049
	19	776	1.349	3.492	3.713	1.386	5.114	3.186	>9.999	8.727

K. 1 = Koloniediät 2.000 IE Vitamin D₃/kg

K. 2 = Koloniediät 1.000 IE Vitamin D₃/kg

Anhang: Tabelle 2 A:

Blutparameter von Tieren der Spezies *Saguinus fuscicollis* (S.f.)
und *Saguinus labiatus* (S.l.) bei Koloniefütterung mit 1.000 IE
Vitamin D₃/kg (siehe 3.2.1)

Tiere		Parat- hormon equl/l	25(OH)D nmol/l	AP U/l	Ca mval/l	P _i mg/dl	Cr mg/dl
S.l.	1	900	213	147	5,1	8,9	0,8
	2	4.238	<30	311	3,7	12,8	0,6
	3	2.198	<30	117	4,5	9,3	0,6
	4	1.088	43	169	4,1	8,1	0,7
	5	2.042	<30	281	4,6	7,2	0,6
	6	1.521	213	161	4,5	7,4	0,7
S.f.	7	749	<30	144	4,8	9,4	0,8
	8	892	231	155	4,2	8,2	0,7
	9	478	<30	249	4,8	9,7	0,8
	10	777	216	212	4,4	12,1	0,7
	11	846	132	93	4,3	8,8	0,8
	12	1.592	152	233	4,6	14,5	0,8
	13	1.638	41	211	4,8	9,9	0,7
	14	1.037	73	109	4,9	8,9	0,7
	15	3.435	42	349	4,5	8,6	0,8
	16	906	<30	82	5,0	6,4	0,7
	17	562	89	146	4,5	7,0	0,6

Anhang: Tabelle 2 B:

Blutparameter von Tieren der Spezies *Saguinus fuscicollis* (S.f.) und *Saguinus labiatus* (S.l.) bei Koloniefütterung mit 2.000 IE Vitamin D₃/kg (siehe 3.2.1)

Tiere		Parat-hormon equl/l	25(OH)D nmol/l	AP U/l	Ca mval/l	P _i mg/dl	Cr mg/dl
S.l.	1	689	149	130	5,0	7,7	0,8
	2	893	<30	445	3,8	10,8	0,6
	3	1.561	78	416	4,5	8,4	0,5
	4	915	55	214	4,7	7,4	0,6
	5	1.476	48	296	4,4	7,2	0,5
	6	1.429	165	229	5,2	9,0	0,6
S.f.	7	734	89	104	5,0	7,5	0,7
	8	808	157	124	4,2	7,6	0,6
	9	749	131	132	4,3	8,8	0,8
	10	868	152	233	4,7	12,6	0,7
	11	588	137	100	5,3	8,5	0,7
	12	1.029	53	91	4,5	6,6	0,7
	13	631	64	196	5,3	9,2	0,6
	14	1.108	93	79	4,4	7,6	0,7
	15	1.887	< 30	252	5,1	8,9	0,6
	16	931	188	98	5,5	7,4	0,6
	17	443	107	72	4,8	9,3	0,6

Anhang: Tabelle 3 A:

Blutparameter der Gruppe A (siehe 3.2.1)

bei Fütterung mit 2.000 IE Vitamin D₃/kg Diät

Tiere	Parat- hormon equl/l	25(OH)D nmol/l	AP U/l	Ca mval/l	P _i mg/dl	Cr mg/dl
1	610	248	160	4,8	9,0	0,7
2	911	33	198	4,5	7,7	0,7
3	569	<30	165	4,3	9,5	0,6
4	1.433	<30	116	4,6	9,5	0,8
5	569	<30	306	4,7	8,2	0,6
6	491	35	190	4,4	6,6	0,7
7	668	124	992	5,1	9,7	0,7
8	3.093	46	318	4,3	7,0	0,8
9	861	<30	171	4,8	9,8	0,7

Anhang: Tabelle 3 B:

Blutparameter der Gruppe B (siehe 3.2.1)

bei Fütterung mit 4.000 IE Vitamin D₃/kg Diät

Tiere	Parat- hormon equl/l	25(OH)D nmol/l	AP U/l	Ca mval/l	P _i mg/dl	Cr mg/dl
1	527	117	141	4,9	6,7	0,5
2	540	133	170	5,3	9,6	0,7
3	192	73	252	6,2	9,7	0,7
4	481	77	188	5,0	11,0	0,6
5	984	155	313	5,2	9,5	0,6
6	725	136	142	4,8	7,8	0,7
7	2.967	141	149	5,0	5,9	0,7
8	589	328	298	5,2	11,3	0,7

Anhang: Tabelle 3 C:

Blutparameter der Gruppe C (siehe 3.2.1)

bei Fütterung mit 8.000 IE Vitamin D₃/kg Diät

Tiere	Parat- hormon equl/l	25(OH)D nmol/l	AP U/l	Ca mval/l	P _i mg/dl	Cr mg/dl
1	426	800	98	4,5	10,8	0,7
2	283	800	133	4,3	6,6	0,7
3	272	284	215	4,9	6,2	0,6
4	1.085	50	651	4,6	8,4	0,6
5	825	584	313	4,8	7,5	0,6
6	1.319	197	726	4,9	7,9	0,6
7	3.955	63	141	4,5	8,2	0,7
8	587	145	197	5,0	7,7	0,6
9	952	400	177	4,6	9,6	0,8
10	1.151	189	334	5,2	9,6	0,8

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Zucker für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. F. Deinhardt für die Möglichkeit, Tierversuche am Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität München durchzuführen, bedanken.

Herrn Prof. Dr. K. Horn danke ich für die in der Medizinischen Klinik Innenstadt München durchgeführten Blutuntersuchungen.

Danken möchte ich ferner Herrn Dr. F. Eitel für die Möglichkeit, an der Chirurgischen Universitätsklinik Röntgenaufnahmen anfertigen zu können.

Mein herzlicher Dank gilt Frau Dr. C. Flurer und Frau Dr. R. Scheid für die Betreuung, die tatkräftige Zusammenarbeit bei den Tierversuchen und für die zahlreichen Anregungen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Schließlich sei allen Mitarbeitern des Max von Pettenkofer-Instituts für die angenehme Zusammenarbeit gedankt.

LEBENS LAUF

Heike Schnell	geboren am 31. Januar 1958 in Tübingen
Eltern	Elmar Schnell, technischer Angestellter Rita Schnell, geb. Seelmann
Schulausbildung	von 1964 - 1966 an der Volksschule in Murnau von 1966 - 1968 an der Grundschule in Schömberg von 1968 - 1977 am mathematisch-natur- wissenschaftlichen Gymnasium in Balingen
Universitätsausbildung	von 1977 - 1983 Studium der Veterinär- medizin an der Ludwig-Maximilians- Universität München Staatsexamen im Sommer 1983 1983 Approbation als Tierärztin
gegenwärtige Tätigkeit	Juni 1983: Beginn der Doktorarbeit am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München August 1983: Einstellung als wissenschaft- liche Hilfskraft am Max von Pettenkofer- Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität München

